



BR0645220



BR0645220



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

**ESTUDO *IN VITRO* DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E  
QUÍMICAS DO ESMALTE DENTAL BOVINO IRRADIADO  
PELO LASER DE HÓLMIO**

**PATRÍCIA LERRO DE PAULA EDUARDO**

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

Orientadora:  
Dra. Denise Maria Zezell

**São Paulo  
2001**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia Associada à Universidade de São Paulo**

363

**ESTUDO *IN VITRO* DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E  
QUÍMICAS DO ESMALTE DENTAL BOVINO IRRADIADO PELO  
LASER DE HÓLMIO**

**PATRÍCIA LERRO DE PAULA EDUARDO**



**Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear — Materiais.**

**Orientadora:  
Dra. Denise Maria Zzell**

**SÃO PAULO**  
**2001**

## DEDICATÓRIA

A meu pai **Hélio**,  
exemplo de amor e dedicação e cujos princípios  
de vida sempre me guiaram, meu imenso obrigada,  
pois sem o seu apoio nada seria possível;

A minha mãe **Zezé**,  
por ser uma pessoa maravilhosa, pelo imenso  
amor e carinho a mim dedicados e, principalmente,  
por estar sempre tão presente;

A minha irmã **Daniela**,  
por todos os momentos, pelo seu companheirismo e  
pela grande ajuda na tradução deste trabalho;

A meu irmão **Gustavo**,  
pela sua amizade, seu companheirismo e por todos os momentos  
que passamos juntos;

A meu noivo **Henrique**,  
meu amor, minha inspiração, minha vida,  
o meu muito obrigada pela incansável ajuda na realização  
deste trabalho;

A minha avó **Amélia**,  
pela sua dedicação, seu amor e por sempre me incentivar  
nos momentos mais difíceis;

A meus avós **Suzana e Armando**,  
pelo grande amor dedicados a mim e por terem sido meus  
segundos pais em um momento tão importante de minha vida;

Ao meu pai **Marcelo** (*in memoriam*),  
o qual certamente está sempre presente, caminhando ao meu  
lado e iluminando todos os meus passos;

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha orientadora, **Professora Dra. Denise Maria Zezell**, por sua incansável dedicação, seu profissionalismo, sua amizade e pelo seu apoio nesses anos de convívio, o meu muito obrigada.

A meu mestre, **Professor Dr. Carlos de Paula Eduardo**, por me conceder o privilégio de integrar sua equipe e por guiar minha carreira profissional, o meu eterno agradecimento.

## AGRADECIMENTOS

Ao MSc. Luciano Bachmann, por toda a paciência, amizade e ajuda, as quais foram essenciais para a execução deste trabalho;

À Professora Dra. Vera Lúcia Ribeiro Salvador, pela realização da análise de Fluorescência de Raios-X, fundamental para este trabalho;

Ao Nildemar, René e Celso pelo trabalho de Microscopia Eletrônica de Varredura, os meus agradecimentos;

Ao Professor Dr. Nilson Vieira por conceder acesso à utilização das instalações e dos equipamentos do Centro de Lasers e Aplicações;

Ao Dr. Wagner de Rossi, pela sua ajuda e paciência possibilitando a execução de parte do trabalho experimental;

À Dra. Martha Simões Ribeiro, pelo seu apoio e sua amizade nas horas mais difíceis;

Ao Nicklaus Ursus Wetter, por suas excelentes sugestões para o engrandecimento deste trabalho;

À Emy, pela sua grande ajuda na preparação de parte das amostras deste trabalho;

A meu primo Luís Ricardo de Paula Eduardo, por todos os momentos difíceis que passamos juntos, por toda orientação, amizade, companheirismo e preocupação dedicados a mim desde que cheguei em São Paulo, o meu muito obrigada;

A minha prima querida, Fernanda de Paula Eduardo, por toda a sua amizade, seu companheirismo e por ter sempre estado presente quando eu mais precisava;

Aos demais colegas do grupo: Andréa, Daniela, Cláudia, Paulo, Walter, Tarso, Sandro e Heloísa, o meu agradecimento por todo o apoio;

Às minhas grandes colegas e amigas, Selma, Ana e Andréia, pela amizade e pelo exemplo de profissionalismo que sempre procurei seguir, o meu eterno agradecimento;

Aos demais colegas da clínica SOL: Flávia, Tereza, Karin, Patrícia, Luciane, Márcia, Rosa, Érica, César, Franco e José Pelino, pela constante colaboração e convívio como grupo;

Aos funcionários da Clínica SOL: Graziela, Darques, Sônia, Roseli, Lina, Maria Selma, Sueli, Ivanete, Roseli, Regilene, Eliane, Antônia e Francisco, muito obrigada por toda a paciência nos momentos difíceis, e pela inestimável ajuda, pois sem vocês nada seria possível;

Aos colegas da Odontologia: Edgar, Eduardo, Sheila, Renata e Sílvia;

Aos técnicos do CLA: Tort, Solange, Marcos, Paulinho, Valdir, Braga e Apolinário, por sua contribuição a todos os trabalhos do Laboratório de Lasers em Ciências da Vida;

Aos integrantes da secretaria: Elsa, Edna e Alfredo (*in memoriam*);

Às secretárias da Pós-Graduação do IPEN: Aninha, Eliana e Verinha, por todas as informações;

Ao Marcus Vinícius, pela ajuda na realização da estatística deste trabalho;

À Regina, pela sua inestimável ajuda na revisão da língua portuguesa;

Ao IPEN-CNEN/SP, pela infra-estrutura que possibilitou a realização desta pesquisa;

Ao CNPq, pelo apoio financeiro;

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão;

E por último, mas acima de tudo, a Deus, pela vida maravilhosa que tenho, e por sempre me dar forças para conseguir vencer todos os obstáculos.

# ESTUDO *IN VITRO* DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E QUÍMICAS DO ESMALTE DENTAL BOVINO IRRADIADO PELO LASER DE HÓLMIO

Patrícia Lerro de Paula Eduardo

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos do laser de Ho:YLF na superfície do esmalte dental em relação à morfologia, à variação térmica na câmara pulpar durante a irradiação e o aumento da resistência à desmineralização por meio de análise quantitativa das concentrações relativas de átomos de cálcio e fósforo nas amostras. Foram utilizadas 20 amostras de esmalte bovino e separadas em quatro grupos: 1) Controle—aplicação de flúor fosfato acidulado (APF) (seguido de tratamento desmineralizante com ácido láctico); 2) irradiação com laser de Ho:YLF ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) seguida de aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (tratamento desmineralizante com ácido láctico); 3) irradiação com laser de Ho:YLF ( $350\text{J}/\text{cm}^2$ ) seguida de aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (tratamento desmineralizante com ácido láctico); e 4) irradiação com o laser de Ho:YLF ( $450\text{J}/\text{cm}^2$ ) seguida de aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (tratamento desmineralizante com ácido láctico). Todas as amostras foram quantificadas em relação às suas concentrações relativas de átomos de cálcio e fósforo, antes e após os tratamentos descritos acima. As análises realizadas foram a Espectrometria de Fluorescência de Raios-X e a Microscopia Eletrônica de Varredura. Observaram-se um aumento da razão das concentrações relativas dos átomos de cálcio e fósforo e uma conseqüente redução da desmineralização do esmalte diante do tratamento com ácido láctico nas amostras irradiadas com o laser de hólmio seguido de aplicação de flúor

fosfato acidulado (APF). Para a avaliação da viabilidade de uso clínico foram analisadas as mudanças morfológicas decorrentes da irradiação com o laser de Ho:YLF, que se caracterizaram por regiões de esmalte fundido e ressolidificado, com conseqüentes alterações na sua permeabilidade e solubilidade. Foram também monitoradas em tempo real as variações de temperatura em dez dentes pré-molares humanos irradiados com  $350\text{J}/\text{cm}^2$  e  $450\text{J}/\text{cm}^2$ . Não houve aumento de temperatura acima de  $4,2^\circ\text{C}$ . Os resultados obtidos neste trabalho, aliados aos resultados de trabalhos prévios desenvolvidos no Centro de Lasers e Aplicações (IPEN), indicam o laser de hólmio como uma alternativa promissora na Odontologia Preventiva.

# IN VITRO STUDY OF MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL MODIFICATION THRESHOLD OF BOVINE DENTAL ENAMEL IRRADIATED BY THE HOLMIUM LASER

Patrícia Lerro de Paula Eduardo

## ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the Ho:YLF laser effects on the dental enamel surface with regards to its morphology, thermal variations during its irradiation in the pulp chamber and its increased resistance to demineralization through quantitative analysis of calcium and phosphorous atoms relative concentrations in samples. Twenty samples of bovine enamel were used and divided in four groups: 1) control - acidulated phosphate fluoride (APF) application followed by demineralization treatment with lactic acid ; 2) irradiation with Ho:YLF laser ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) followed by APF topic application and demineralization treatment with lactic acid; 3) irradiation with Ho:YLF laser ( $350\text{J}/\text{cm}^2$ ) followed by APF topic application and demineralization treatment with lactic acid, and 4) irradiation with Ho:YLF laser ( $450\text{J}/\text{cm}^2$ ) followed by APF topic application and demineralization treatment with lactic acid. All samples were quantified according to their calcium and phosphorous atoms relative concentrations before and after the treatments above. X-Ray fluorescence spectrochemical analysis and scanning electron microscopy were carried out. It was observed an increase on the calcium and phosphorous atoms concentration ratio and therefore the enamel demineralization reduction as a result of the lactic acid treatment in the samples irradiated with the holmium laser followed by the APF application. In order to evaluate the feasibility

of this study for clinical purposes, morphological changes caused by the holmium laser irradiation were analyzed. Such modifications were characterized by melted and re-solidified regions of the enamel with consequent changes on its permeability and solubility. Temperature changes of ten human pre-molars teeth irradiated with  $350 \text{ J/cm}^2$  and  $450 \text{ J/cm}^2$  were also monitored in the pulp chamber in real time. Temperature increases over  $4,2^\circ \text{ C}$  did not occur. The results obtained from this study along with the results from previous researches developed at "Center for Lasers and Applications (IPEN)", indicate the holmium laser as a promising alternative for the Preventive Dentistry.

# SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	i
Abstract.....	iii
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
<b>3 CÁRIE DENTAL E PREVENÇÃO .....</b>	<b>5</b>
3.1 Fatores Etiológicos.....	6
3.2 Abordagens Preventivas Contemporâneas .....	7
3.2.1 Prevenção primária-verdadeira (ou primária-primária).....	8
3.2.2 Prevenção secundária .....	8
3.2.3 Prevenção terciária .....	8
3.3 Placa Dentária – Um Biofilme Microbiano.....	9
3.3.1 Formação da placa dental cariogênica e suas implicações clínicas .	10
3.4 Composição Química do Esmalte e da Dentina .....	11
3.5 Físico-Química do Esmalte, Dentina e da Saliva.....	12
3.6 Uso de Fluoretos.....	14
3.6.1 Meios de usar flúor sistêmico.....	14
3.6.1.1 Água fluoretada.....	14
3.6.1.2 Fluoretação do sal de cozinha.....	15
3.6.1.3 Suplementos pré-natal .....	15
3.6.1.4 Suplementos pós-natal.....	16
3.6.2 Flúor tópico – meios de usar e benefícios .....	16
3.6.2.1 Dentifrícios fluoretados.....	17
3.6.2.2 Bochechos com flúor .....	18
3.6.2.3 Aplicação tópica de flúor profissional (ATFP).....	21
3.7 Outros Fatores Importantes na Prevenção de Cáries .....	21
<b>4 LASERS EM PREVENÇÃO DE CÁRIES .....</b>	<b>25</b>

4.1	Interação da Luz Laser com os Tecidos Vivos .....	26
4.2	Tipos de Efeitos da Luz Laser em Tecidos Biológicos .....	30
4.3	Laser de Neodímio .....	33
4.4	Laser de CO <sub>2</sub> .....	38
4.5	Laser de Argônio.....	43
4.6	Laser de Érbio .....	44
4.7	Laser de Diodo .....	46
4.8	O Laser de Hólmio .....	47
4.8.1	O laser de hólmio na prevenção de cáries.....	53
5	MATERIAIS E MÉTODOS .....	57
5.1	Preparação das Amostras.....	57
5.2	Tratamento das Amostras.....	58
5.3	Laser de Er:Tm:Ho:LiYF <sub>4</sub> .....	59
5.4	Irradiação das Amostras .....	61
5.5	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Comprimento de Onda .....	63
5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	66
5.7	Sistema de Monitoração da Temperatura .....	67
6	RESULTADOS .....	70
6.1	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X .....	70
6.1.1	Análise descritiva .....	71
6.1.2	Análise inferencial.....	74
6.2	Monitoração da Temperatura na Câmara Pulpar.....	78
6.3	Microscopia Eletrônica de Varredura .....	80
7	DISCUSSÃO .....	88
8	CONCLUSÕES .....	104

<b>9 APÊNDICE .....</b>	<b>105</b>
<b>9.1 LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>105</b>
9.1.1 Acrogramas .....	105
9.1.2 Biologia .....	106
9.1.3 Unidades .....	106
9.1.4 Química .....	107
<b>9.2 LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>109</b>
<b>9.3 LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>112</b>
<b>10 ANEXO .....</b>	<b>113</b>
<b>11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>114</b>

# 1 INTRODUÇÃO

As características especiais que diferenciam a luz laser da luz comum, como a monocromaticidade, a coerência, a direcionalidade, a possibilidade de focalização em pequenas áreas e a emissão de altas densidades de energia, faz do laser um instrumento de grande interesse e importância para aplicações nas áreas biomédicas, tanto em diagnóstico quanto em terapia.

O laser de hólmio apresenta emissão na região de  $2 \mu\text{m}$  no espectro eletromagnético, coincidente com um dos picos de absorção da água, maior constituinte do corpo humano. Esse comprimento de onda pode ser transmitido por fibras ópticas de sílica comerciais com baixo teor de  $\text{OH}^-$  para evitar as perdas das fibras comuns que apresentam grandes atenuações para  $\lambda > 1,7\mu\text{m}$ , dando a este laser a flexibilidade necessária para aplicações biomédicas em que a atuação superficial e precisa é necessária. Nos últimos anos este laser tem obtido destaque sobretudo em aplicações ortopédicas nas cirurgias artroscópicas de juntas, bem como nas cirurgias de hérnia de disco. Sua aplicação, aprovada pelo FDA, agência governamental norte-americana que regula o uso de medicamentos e equipamentos na área de saúde, em odontologia, tem-se limitado até o momento ao corte e à hemostasia de tecidos moles e à atuação superficial em esmalte.

A partir do início dos anos 90, muitas pesquisas de aplicações biomédicas se concentraram em lasers de estado sólido pulsados operando em

comprimentos de onda no infravermelho próximo. Esses estudos têm investigado especialmente os efeitos qualitativos e quantitativos dos lasers de hólmio e érbio.

Desde que Sognaes & Stern (1965) demonstraram que a incidência laser aumenta a resistência do esmalte dental a ácidos, muitas pesquisas têm sido realizadas na área de prevenção de cáries a laser<sup>1</sup>.

O desenvolvimento, de um protótipo de laser de Ho:YLF no IPEN para aplicações em ciências da vida, com características de emissão diferenciadas em relação aos lasers comerciais, possibilitou a realização de experimentos *in vitro* com obtenção de resultados inéditos na literatura odontológica.

Trabalhos prévios desenvolvidos no Centro de Lasers e Aplicações do IPEN/CNEN-SP, observaram mudanças nas propriedades físicas do esmalte dental mediante a avaliação de microdureza e a análise de concentração relativa de átomos de cálcio e fósforo, após a desmineralização ácida de esmalte irradiado com laser de hólmio. Foi observado aumento de microdureza, aumento na incorporação de flúor no esmalte, e ainda uma menor perda da concentração de cálcio quando o esmalte é submetido a desafio ácido. Esses fatores indicam que o laser de hólmio pode ser útil como coadjuvante na prevenção de cáries<sup>2,3,4,5,6,7,8</sup>.

Com o advento e desenvolvimento de novas técnicas, a odontologia preventiva vem sendo vista por novos prismas. Não mais apenas o da química, mas também o da física. Assim, abre-se espaço para novos métodos que venham

não apenas incrementar a ação do flúor, mas que também atuem na resistência do esmalte dental.

Seguindo-se esta proposta, o laser representa uma alternativa promissora no que diz respeito à Odontologia Preventiva. Induzindo efeito térmico, alguns lasers de alta densidade de potência podem promover fusão e ressolidificação do esmalte dental causando alterações no nível de permeabilidade e solubilidade do esmalte dental, contribuindo também para uma maior resistência ao processo cariioso.

## 2 OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivo analisar as alterações químicas ocorridas no esmalte irradiado por um protótipo de laser de Ho:YLF, associado à aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (APF), correlacionando-os com a ação na prevenção de cárie.

As alterações morfológicas do esmalte irradiado *in vitro* são avaliadas por intermédio de microscopia eletrônica de varredura.

A resistência do esmalte à desmineralização será avaliada semi-quantitativamente analisando as concentrações relativas dos elementos cálcio e fósforo por meio de Espectrometria de Fluorescência de Raios-X.

Serão avaliadas as alterações de temperatura na câmara pulpar das amostras durante a irradiação com o laser de hólmio, com o propósito de se viabilizar a utilização deste laser em experimentos *in vivo*.

### 3 CÁRIE DENTAL E PREVENÇÃO

A cárie é presentemente reconhecida como uma doença infecciosa oportunista de caráter multifatorial, fortemente influenciada pelos carboidratos da dieta e pela ação dos componentes salivares, que resulta em uma perda localizada de miligramas de minerais dos dentes afetados, causada por ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta <sup>9</sup>.

A doença cárie é, de certa forma, uma "doença nova" do homem, como indicam os estudos com fósseis de hominídeos africanos. Acredita-se que essa doença só apareceu, verdadeiramente, quando o homem deixou de ser caçador e começou a usar açúcar. O aparecimento de lesões cariosas na dentição de humanos é o sinal clínico patognômico da atividade dessa doença, que é mediada pela presença de placas bacterianas. No entanto, para que essas placas possam comportar-se de maneira cariogênica, é preciso que ocorra durante determinado período a interação em condições críticas de diversos fatores normalmente presentes nesses ecossistemas <sup>9</sup>.

Seu aparecimento está associado à interação de três fatores essenciais: o hospedeiro, representado pelos dentes e pela saliva; a microbiota da região e a dieta consumida. Para que a cárie possa ocorrer, tais fatores devem não apenas estar presentes, mas também interagir em condições críticas, a saber: um hospedeiro com tecidos suscetíveis (dentes), colonizado por uma microbiota com potencial cariogênico, consumindo com freqüência uma dieta rica em sacarose. Destas condições, podem desenvolver-se placas dominadas por bactérias

cariogênicas e, após um certo período de tempo, aparecerem as lesões de cárie<sup>9</sup>. Sabe-se que o evento mais crucial para o desencadeamento do processo cariioso é a seleção e dominância de certos grupos de microrganismos específicos, acidotolerantes. Nessas condições pode haver substancial queda do pH das placas, agregando-lhes, dessa forma, forte potencial desmineralizador.

### 3.1 Fatores Etiológicos

Entre os microrganismos considerados cariogênicos destacam-se os *Streptococos do grupo mutans* (EGM), que são transmitidos de um ser humano para outro, dentro do ambiente familiar, por intermédio da saliva, durante um período de tempo relativamente curto na primeira infância. Tudo indica que a fonte primária da infecção cariogênica nas crianças é a mãe, configurando o que se chama em epidemiologia de *transmissão vertical*. Também não dispomos de dados que nos possibilitem suspeitar da existência de *transmissão horizontal* dentro ou fora da família, não sendo a doença cárie uma doença com características verdadeiramente infecto-contagiosas<sup>9</sup>.

Em relação às pesquisas científicas encontradas nos últimos 30 anos, ainda existem controvérsias sobre o caráter infeccioso da doença cárie. Por essa razão, é de relevância mencionar que o Centro de Controle de Doenças (CDC) em Atlanta, EUA, a mais importante organização internacional na área de doenças infecciosas a qual atua como uma referência mundial, considera a doença cárie uma doença bacteriana de natureza infecciosa<sup>10</sup>. Para esse órgão

americano, a doença cárie é, provavelmente, a mais prevalente de todas as doenças bacterianas infecciosas que acometem o homem<sup>11</sup>.

Os fatores secundários, tais como a saliva, a exposição ao flúor, a higiene oral e outros, aumentam ou diminuem a resistência dos dentes, a cariogenicidade do substrato local (dieta) e o potencial cariogênico da microbiota, ou seja, podem modular a atividade de cárie.

Todas as estratégias de prevenção de cáries visam aumentar a resistência do esmalte dental do hospedeiro à ação dos ácidos produzidos pelos microrganismos da placa, ou diminuir o poder patogênico desta mesma placa (pela diminuição do número de placas ou da quantidade de microrganismos desta), ou ainda evitando a presença prolongada e freqüente de substratos cariogênicos, no caso mais específico, a sacarose, que possam ser degradados em ácidos pelas bactérias da placa bacteriana.

### **3.2 Abordagens Preventivas Contemporâneas**

Tendo como referências o conceito de cárie como doença infecciosa e as demais informações discutidas anteriormente, poderemos fazer uma releitura dos níveis de prevenção usados até o presente, estabelecendo as seguintes proposições para a prevenção e o controle da atividade cariogênica.

### 3.2.1 Prevenção primária-verdadeira (ou primária-primária)

Evitar ou retardar a transmissão (precoce) da microbiota cariogênica da mãe para a criança pela redução temporária dos reservatórios maternos de estreptococos do grupo *mutans* (EGM). O uso de antimicrobianos, como a clorexidina (em gel ou verniz, na concentração de 1% ou 10%), e o consumo de goma de mascar, ou com o xilitol, são medidas adicionais recomendadas quando não se tem êxito com a utilização dos procedimentos básicos tradicionais. O controle dos contatos salivares freqüentes pelo binômio mãe-filho também é uma medida importante nesse contexto<sup>9</sup>.

### 3.2.2 Prevenção secundária

No caso de já se ter estabelecido uma colonização precoce por estreptococos do grupo *mutans* (EGM), é possível evitar o aparecimento de condições ecológicas que favoreçam a formação de uma "massa crítica" (níveis patogênicos) desses microrganismos. O controle do consumo freqüente de sacarose, a redução sistemática das placas e a sua desorganização pela higiene bucal e fluoroterapia são ferramentas relevantes para atingir tal objetivo<sup>9</sup>.

### 3.2.3 Prevenção terciária

Se a microbiota cariogênica já atingiu níveis críticos nas placas, poderemos tentar evitar o aparecimento de lesões clinicamente visíveis ou, caso não seja possível, evitar a transformação destas em lesões com cavidade na dentina, empregando de maneira combinada as diferentes estratégias referenciadas anteriormente, com ênfase nos métodos de fluoroterapia intensiva<sup>9</sup>.

### 3.3 Placa Dentária – Um Biofilme Microbiano

As principais patologias que podem afetar o ecossistema bucal, as doenças cárie e periodontal, são condições mórbidas multifatoriais, ubíquas na população, sendo mediadas pela presença de placas bacterianas, ou seja, são fenômenos de superfície. Atualmente, as placas bacterianas têm sido definidas como biofilmes que se formam naturalmente na superfície dos dentes e cuja presença, em um estado de equilíbrio dinâmico com a resistência orgânica e as estruturas locais, é compatível com a integridade dos tecidos colonizados. Nessas circunstâncias, a presença desses biofilmes dificulta a colonização da boca por espécies microbianas exógenas, inclusive as estritamente patogênicas. Por outro lado, as evidências disponíveis confirmam que a formação dos biofilmes é o evento central que medeia o começo e a progressão das principais doenças bucais e dá suporte à percepção de que as placas dentárias patogênicas não se formam espontaneamente, mas sim, em resposta a certos tipos de pressões que produzam alterações ambientais mais duradouras. A transição do estado de saúde para o de doença dentro dos biofilmes está relacionada com mudanças na composição e no metabolismo das populações bacterianas presentes. Conseqüentemente, a manutenção de condições ambientais que garantam a estabilidade da comunidade bacteriana das placas pode prevenir ou reduzir a incidência de lesões cariosas e periodontais <sup>12</sup>.

As superfícies preferidas para a formação dos biofilmes são aquelas que apresentam uma junção líquido-sólido. Em outras palavras, os biofilmes se

formam em qualquer superfície exposta à presença de microrganismos, água e uma pequena quantidade de nutrientes. Sabe-se por exemplo que as proteínas salivares adsorvidas sob a forma de uma película conferem propriedades ao mineral dos dentes garantindo a aderência de bactérias<sup>13</sup>.

### 3.3.1 Formação da placa dental cariogênica e suas implicações clínicas

Na saliva humana convivem milhões de bactérias, e algumas delas têm a superfície dura dos dentes como seu hábitat. Desde os primórdios da humanidade as bactérias sempre aderiram aos dentes formando placa dental. Entretanto, tudo mudou nesta relação entre as bactérias e o homem quando a sacarose (açúcar da cana e da beterraba) passou a ser industrializada e usada freqüentemente. As bactérias, em particular as do grupo *mutans*, possuem enzimas chamadas genericamente de glicosiltransferases, as quais estão presentes na superfície bacteriana e na película adquirida do esmalte. A partir da sacarose, exclusivamente, essas enzimas produzem substâncias pegajosas como os polissacarídeos insolúveis, que facilitam a aderência das bactérias, mesmo às superfícies lisas.

Simultaneamente, a sacarose fornece energia para as bactérias se multiplicarem, permanecendo entre elas esses polissacarídeos extracelulares. Assim, a sacarose facilita a formação de placa, a qual sendo mais porosa devido a essa matriz de polissacarídeos, torna a placa dental mais cariogênica. Isso facilita a difusão de açúcares por essa matriz, levando a quedas mais acentuadas de pH na interface dente - placa. Em conseqüência, a placa dental formada pela presença de sacarose tem menores concentrações inorgânicas de cálcio, fosfato e flúor. A implicação clínica desta propriedade da sacarose está no fato de que

sua presença pode tornar alimentos anticariogênicos em cariogênicos. Este é o caso do leite, que perde suas propriedades anticariogênicas quando é açucarado, devido a mudanças na estrutura da placa dental<sup>9</sup>.

### 3.4 Composição Química do Esmalte e da Dentina

Durante muito tempo, o enfoque preventivo foi a composição química do esmalte, em razão de ser esta a estrutura dental que primeiro se expõe na cavidade bucal, ficando sujeita às variações do meio ambiente.

Tanto o esmalte como a dentina são compostos de minerais à base de apatita (sais contendo cálcio e fosfato), os quais são extremamente dinâmicos, quer seja quando do desenvolvimento dental como após a erupção. Assim, no decorrer de muito tempo o conceito que persistiu foi a estratégia de tentar melhorar a estrutura cristalina dos dentes para torná-los mais resistentes aos desafios do meio ambiente, por conseguinte, à cárie dental. Durante a mineralização dos dentes, duas substâncias, flúor e carbonato, entram naturalmente na estrutura dental. Tais substâncias, por suas propriedades antagônicas, ainda despertam a atenção dos pesquisadores na tentativa de tornar o dente mais resistente à cárie dental.

Com relação ao flúor, por longo período predominou o conceito de que este se incorporando ao dente formaria fluorapatita a qual, sendo menos solúvel que a hidroxiapatita, não só explicaria a menor ocorrência de cárie quando da ingestão de água fluoretada, como também justificaria o uso de flúor sistêmico. Na

realidade, quando se ingere flúor durante a formação dos dentes, não se forma fluorapatita, mas se incorpora uma quantidade de flúor correspondente a aproximadamente apenas 10% de substituição de hidroxiapatita por fluorapatita. Essa concentração de flúor não torna o esmalte mais resistente aos ácidos produzidos pelas bactérias, pois para ficar menos solúvel seriam necessários 30.000 ppm de flúor. Dessa forma, considerando-se que no esmalte de quem o ingere não se forma fluorapatita e sim apatita fluoretada, a necessidade de considerar a ingestão de flúor como indispensável para controlar a cárie deveria ser posta em questão <sup>9</sup>.

### **3.5 Físico-Química do Esmalte, Dentina e da Saliva**

Quando um dente erupciona, as estruturas minerais do esmalte ficam sujeitas às variações do meio ambiente bucal. A saliva, por apresentar cálcio e fosfato, os principais minerais componentes da estrutura cristalina dos dentes, protege naturalmente o esmalte. Por outro lado, essa propriedade biológica da saliva é dependente do pH. Assim, variações de pH devido a produtos da dieta ou da conversão de açúcar em ácido pela placa dental determinarão o limite da capacidade da saliva de proteger os dentes.

Desse modo, o conceito de pH crítico tem sido estabelecido em odontologia para definir quando a saliva não tem mais capacidade de proteger a estrutura mineral dos dentes. De outra forma, considerando-se que nos dias atuais as pessoas estão expostas ao flúor, seja pela ingestão de água e/ou pelo

uso de dentifrícios fluoretados, a presença constante de flúor na saliva muda suas propriedades físico-químicas com relação ao chamado pH crítico de dissolução do dente.

Embora isso seja um fator físico-químico, não se deve supor que o uso de flúor possa compensar qualquer consumo de açúcar. Tendo em vista que o flúor não impede a perda de mineral, porém a reduz de maneira significativa, a ausência total de cárie seria mais bem explicada quando, simultaneamente ao uso de flúor, fosse seguida uma disciplina de consumo de açúcar. Nesta reestruturação de mineral com trocas de hidroxiapatita por fluorapatita, a deposição ocorre basicamente na superfície dental. Isso explicaria a ocorrência de uma lesão subsuperficial e a posterior resistência à progressão da cárie. Outra implicação clínica é o fato de o uso de flúor levar a uma redução significativa da perda de mineral, que pode manter-se num estágio subclínico ou se manifestar como uma lesão de mancha branca de cárie paralisada.

Em conclusão, há um dinamismo entre a composição dos dentes, suas propriedades físico-químicas e o meio ambiente bucal. Os fatores que determinarão o que ocorrerá com a estrutura mineral dos dentes são as flutuações de pH e a presença ou não de flúor no meio. Por outro lado, as variações de pH relacionadas com a progressão da cárie dental dependem da formação de uma placa dental cariogênica e da conversão de carboidratos (açúcares) em ácidos.

### **3.6 Uso de Fluoretos**

Embora os fluoretos tenham como principal forma de ação documentada e aceita o seu papel no controle compensatório dos ciclos de desremineralização, aumentando localmente a resistência do esmalte contra o desafio cariogênico ao diminuir a velocidade da perda e estimular os fenômenos de redeposição mineral, sabe-se que em doses subinibitórias esses compostos podem reduzir a glicólise, diminuindo a produção e o acúmulo de ácidos no biofilme.

Atualmente a medida de maior impacto para o controle do desenvolvimento da cárie tem sido o uso de flúor<sup>14</sup>. Embora o seu uso isolado não impeça o desenvolvimento da cárie, porém apenas reduza a sua progressão, o declínio mundial da manifestação desta doença tem sido atribuído ao uso abrangente de uma ou mais formas de utilização do flúor.

#### **3.6.1 Meios de usar flúor sistêmico**

##### **3.6.1.1 Água fluoretada**

Trata-se de um método de uso coletivo do flúor, consagrado no século XX como uma das principais medidas de saúde pública, em razão de reduzir os níveis de cárie na população. A eficiência desse método foi comprovada em dezenas de países mediante centenas de avaliações. Pesquisas mostram que a prevalência de cárie dental no Brasil era muito mais alta antes da fluoretação da água, e decresceu atingindo índices moderados no início da década de 90.

Isso mostra a eficiência do método que isoladamente reduziu em 50% a prevalência de cárie. Por outro lado, é possível constatar que após 1990, a redução foi mais rápida, atingindo em 1995 valores de prevalência de cárie dental (CPOD) similares aos encontrados nos países desenvolvidos<sup>15</sup>.

Em populações em que a higiene oral é precária e em que outros métodos de prevenção são de difícil acesso, a utilização da fluoretação artificial das águas pode ser de grande benefício. No entanto o risco de fluorose toxicidade do flúor decorrente do nível de flúor circulante no organismo, afetando o esmalte em formação, em diversos graus de severidade, deve ser levado em consideração, quando esse flúor é incorporado ao dente em idades precoces<sup>16</sup>.

### **3.6.1.2 Fluoretação do sal de cozinha**

Este método tem sido sugerido pela Organização Pan-Americana de Saúde como ideal para os países das Américas, considerados de economia de mercado não-estabilizada. O sucesso da fluoretação do sal na Suíça bem como um estudo piloto feito na Colômbia têm sido a base para a sua recomendação, a qual deve ser vista com ceticismo.

### **3.6.1.3 Suplementos pré-natal**

A indicação de flúor pré-natal foi fundamentada no conceito de que seria indispensável fazer suplementação se a sua concentração na água não fosse "ótima". Assim, medicamentos ainda têm sido indicados pelos médicos para gestantes; entretanto, tal indicação é totalmente empírica e não há razão de ser, uma vez que não há fundamentação quanto ao mecanismo de ação do flúor, à

dose ideal e aos seus benefícios. Em conclusão, não há razão para a prescrição de flúor pré-natal, e devendo esses produtos serem retirados do mercado, porque além de não trazerem benefício, não são educativos; a odontologia deveria preparar a futura mãe para o controle da doença e não para acreditar numa medição inócua<sup>9</sup>.

#### **3.6.1.4 Suplementos pós-natal**

Embora os suplementos de flúor pós-natal tenham sido usados no passado em programas escolares em termos de saúde coletiva, hoje eles são basicamente de indicação individual. Não há segurança para se prescrever suplementos de flúor pós-natal. Trata-se de um dos métodos de uso individual de flúor de difícil controle, sendo comum a sua interrupção. Desse modo: a) não é indispensável ingerir flúor para o controle da cárie; e b) o flúor interfere com a progressão da cárie e não com os fatores responsáveis pela doença<sup>9</sup>.

#### **3.6.2 Flúor tópico – meios de usar e benefícios**

Dos meios de usar o flúor tópico, o que melhor se enquadra em termos do controle da cárie como doença é o dentifício fluoretado. Assim, ao mesmo tempo que a placa dental é desorganizada periodicamente pelo ato da escovação, o flúor é usado de forma regular, constante. Assim toda vez que os dentes são escovados com dentifício fluoretado, a concentração de flúor na saliva aumenta, permanece elevada por um tempo de 30-40 minutos e volta ao normal. O mesmo ocorre após o uso de bochecho fluoretado ou aplicação tópica de flúor profissional<sup>9</sup>.

### 3.6.2.1 Dentifrícios fluoretados

A importância deste meio de usar flúor foi resgatada a partir da década de 80, quando, surgiram os primeiros dados da redução da cárie dental, independentemente de fluoretação da água, considerado um método indispensável. Simultaneamente, comprovou-se haver uma correlação entre o declínio da cárie dental, ocorrido em 16 países, e a agregação de flúor em mais de 90% dos dentifrícios comercializados. Assim, tem sido atribuída aos dentifrícios fluoretados a razão principal para a redução da cárie dental, constatação feita na maioria dos países desenvolvidos<sup>9</sup>.

No Brasil, mudanças qualitativas e quantitativas ocorrem com os dentifrícios a partir de 1988. Além de ser agregado flúor aos dentifrícios mais vendidos, passando os fluoretados a contribuir com 90% das vendas, a reforma sanitária ocorrida no Brasil e a implantação de programas de educação para a saúde nas escolas permitiram que um outro segmento da sociedade pudesse também ser beneficiado por este meio de usar flúor. Isso resultou no declínio de cáries em escolares no Brasil, independentemente da fluoretação da água<sup>9</sup>.

Estes resultados mostram que o flúor do dentifrício é eficiente no auxílio da reposição de minerais perdidos pelo dente por intermédio da saliva. Este efeito é considerado apenas parcial, pois o potencial do flúor, no efeito de reposição de minerais perdidos pelo dente, é limitado, bem como mostra-se mais eficiente quando a quantidade da reposição é pequena. Deste modo, a eficiência do dentifrício fluoretado assenta-se na regularidade da escovação, uma vez que o

flúor interfere na dinâmica do processo de cárie. Assim, ao mesmo tempo que a placa dental é desorganizada periodicamente, diminuindo seu potencial patogênico, o flúor ajuda a saliva a repor as pequenas quantidades de minerais perdidas pelo dente.

Por outro lado, em muitas situações clínicas o uso isolado de dentífrico fluoretado não é suficiente para o controle da cárie dental. Sendo recomendados a associação com outros meios de usar o flúor, e/ou o controle químico de placa dental<sup>9</sup>.

### **3.6.2.2 Bochechos com flúor**

Consiste em um meio de usar o flúor extremamente relevante até há pouco tempo, antes do impacto do uso do dentífrico no controle da cárie. Sua indicação é muito mais individual, em termos de risco ou atividade de cárie. Também pode, ainda, ser importante em termos coletivos, dependendo da análise de cada situação e a prevalência de cárie da população.

Em se tratando de uso coletivo, a recomendação tem sido a utilização semanal de NaF a 0,2%. Em termos individuais, a indicação seria de bochechos diários de NaF a 0,05%. O uso de bochechos de flúor associados a dentífricos fluoretados tem sido considerado importante para a prevenção de cárie em pacientes com alto risco de cárie, tais como por exemplo: casos de xerostomia (diminuição do fluxo salivar) e o uso de aparelhos ortodônticos.

Podemos também lançar mão de agentes quimioprolifáticos ou quimioterápicos, como a clorexidina que é a substância antibacteriana mais utilizada nos dias de hoje por apresentar um efeito "antiplaca"<sup>17</sup>. Este composto atua sobre a membrana celular bacteriana provocando distúrbio na sua função e com extravasamento dos conteúdos celulares. Apresenta efeito cariostático quando em concentrações baixas. A clorexidina age também inibindo as energias essenciais para o acúmulo bacteriano nas superfícies dos dentes. Outro modo de ação é reduzir a atividade metabólica das bactérias da placa.<sup>18</sup> Ela se apresenta comercialmente em forma de géis e vernizes para uso profissional e em forma de soluções para o uso pelo próprio paciente. A sua indicação seria para pacientes que apresentem alto risco de cáries, com a finalidade de diminuir drasticamente o desenvolvimento de lesões cariosas com redução da população dos estreptococos do grupo *mutans*. Esta substância apresenta como efeitos colaterais apenas efeitos locais, como leve pigmentação dos dentes, distúrbios no paladar e um gosto amargo, sendo tais efeitos reversíveis quando interrompida a utilização deste produto, sem causar maiores problemas.

A associação da cloredixina com dentifrício dental, utilizados diariamente, causa uma redução do nível de estreptococos do grupo *mutans* na saliva e na placa interdental. Autores compararam a eficácia de três preparos de cloredixina: os sítios interdentais foram menos afetados à ação dessa substância e o resultado final independeu do tipo de preparo da cloredixina gel, pasta ou verniz<sup>19</sup>.

Esta substância associada ao flúor seria indicada tendo em vista que o flúor isoladamente só reduz o risco de cárie, e para evitá-la, deveríamos associar

seu uso com o controle químico de placa, quando o controle mecânico por alguma razão nem mesmo desorganiza a placa dental.

Outra substância também bastante utilizada na atualidade é o triclosan, um agente não-iônico, presente em soluções anti-sépticas e cremes dentais com o objetivo de reduzir a formação de placas bacterianas, uma vez que apresenta ação bacteriostática em baixas concentrações. O triclosan atua sobre a membrana citoplasmática dos microrganismos, promovendo a lise bacteriana. Esta substância tem sido muito utilizada como anti-séptico e conservante em sabões e fórmulas dermatológicas. Atualmente vem sendo utilizada como desinfetante, anti-séptico e degermante em hospitais. Um estudo clínico de seis meses demonstrou que não há alterações ecológicas com a utilização do triclosan, bem como não houve relatos de crescimento de população microbianas resistentes ao triclosan<sup>17</sup>.

A associação do triclosan ao gantrez (copolímero) e ao flúor foi realizada por pesquisadores em 1998, esta, em seguida, associada a uma solução destinada para controlar quimicamente a placa dental. Essa associação apresenta uma ação sinérgica e atua satisfatoriamente como auxiliar da higiene bucal<sup>20</sup>.

O uso adicional dos bochechos tem ação limitada no benefício da prevenção. Desse modo fica restrita a sua indicação a pacientes com alto risco de cárie e em situações individualizadas como: em seguida à erupção dental; pacientes com deficiência salivar; depois de cirurgias com exposição radicular; após instalação de próteses fixas, e próteses removíveis; indivíduos com

distúrbios de alimentação ou mudanças no estilo de vida; indivíduos mental e/ou fisicamente comprometidos<sup>21</sup>.

### **3.6.2.3 Aplicação tópica de flúor profissional (ATFP)**

Consiste em uma técnica alternativa do profissional para tentar compensar a ausência de auto-uso de flúor, ou a deficiência de medidas preventivas, pelo paciente. Para que com o uso da ATFP se consiga o mesmo sucesso do uso constante de flúor pelo paciente, vários produtos têm sido idealizados e várias recomendações clínicas feitas para a sua utilização. O grande desafio é compensar o uso regular de flúor, o que seria mais apropriado em termos de conceitos atuais de efeito do flúor no controle da cárie dental. Assim, uma única ATFP é muito pouco eficiente para controlar a progressão de cáries quando há alto risco desta.

A ATFP tem sido recomendada em várias situações clínicas, sendo elas: indivíduos cárie-ativos; crianças, logo após a erupção dental; indivíduos com deficiência salivar; depois de cirurgia periodontal; após reabilitação oral; problemas comportamentais; pacientes especiais e pacientes ortodônticos<sup>9</sup>.

## **3.7 Outros Fatores Importantes na Prevenção de Cáries**

Para diminuir o poder agressivo da placa bacteriana pode-se diminuir a quantidade, por meio de escovações regulares dos dentes e do uso do fio dental, principalmente em áreas retentivas, onde há o maior acúmulo de placa, pois somente a remoção mecânica não é suficiente para o controle da placa ideal<sup>21</sup>.

A aplicação de substâncias que impeçam a adesão de bactérias em nichos naturais dos dentes, tais como sulcos e fissuras da superfície oclusal, constitui em outra forma de prevenção. Inclui-se aqui o uso de selantes resinosos ou ionoméricos na superfície oclusal dos dentes obliterando os sulcos e as fissuras.

Os selantes foram desenvolvidos na década de 70 e são considerados excelentes métodos de prevenção de cáries oclusais, porém o fator que vai determinar a sua eficácia será o seu grau de retenção. Esta retenção depende basicamente das condições da aplicação do operador. Os selantes resinosos ou ionoméricos são altamente susceptíveis à umidade durante a sua aplicação. Em dentes recém-erupcionados o controle da umidade é um fator crítico<sup>22</sup>.

O correto selamento das superfícies oclusais dos dentes deveria ser feito entre o período de erupção do elemento dental até a sua oclusão funcional<sup>23</sup>, porém alguns autores sugerem que aquele seja aplicado por um período mais longo de tempo, visto que as cáries oclusais podem acometer adolescentes e adultos<sup>24</sup>.

A preocupação com possíveis cáries subclínicas estarem ocluídas pelo selante fez com que estudos fossem realizados para demonstrar que cáries não progridem nos dentes selados, e as bactérias, nestas circunstâncias, podem morrer e até haver uma remineralização das cavidades sob selantes intactos. Conclui-se que o sucesso na prevenção com a utilização desses selantes vai

dependem de uma contínua manutenção destes e da cuidadosa observância da técnica na aplicação<sup>25</sup>.

Um estudo recente avaliou a utilização do laser de Er:YAG, o ataque ácido e a abrasão a ar no tratamento de sulcos e fissuras que foram posteriormente selados. Foi verificada a microinfiltração nos vários grupos experimentais, indicando que o uso do laser como método exclusivo ocasionou alto grau de infiltração, enquanto que a associação de métodos não diminuiu a microinfiltração marginal na interface selante - esmalte quando comparado ao grupo tratado apenas com ácido. Estes resultados não indicam o laser de érbio como coadjuvante no método de prevenção de cáries pela colocação de selantes<sup>26</sup>.

Uma dieta nutricional adequada tem papel importante durante a formação do dente, porém terá pouca influência no processo cárie, visto que apenas as propriedades físicas e químicas dos alimentos juntamente com a fisiologia salivar terão importância na instalação da doença.

Artifícios que aumentem o fluxo salivar, como goma de mascar sem açúcar, alimentos fibrosos, vegetais, além do procedimento de escovação dentária ou de um simples bochecho, são indicados na prevenção de cáries.

O uso de açúcar xilitol, o qual não é um açúcar fermentado por muitos microrganismos da placa, não causa a produção de ácidos pela placa dental, não sendo considerado cariogênico. Estudos atribuem a ele propriedades anticariogênicas, como também a redução dos estreptococos do grupo *mutans* e

a diminuição do desenvolvimento de gengivites. Um estudo duplo cego realizado em 1999 não encontrou diferenças estatísticas significativas, mostrando que não houve alterações no acúmulo da placa dental, no desenvolvimento de gengivite, na ação acidogênica da placa nem no fluxo salivar, quando utilizado o xilitol<sup>27</sup>.

O uso de gomas de mascar adoçadas com xilitol mostram que, pela redução da produção de ácido no biofilme, ocorre uma inibição seletiva no crescimento dos EGM. O ato de mastigação da goma também produz um aumento no potencial de remineralização em virtude do estímulo do fluxo salivar, do aumento da capacidade-tampão e pelo incremento na concentração de uréia e peptídeos, a partir dos quais podem ser formadas substâncias básicas. Por outro lado, sabe-se que outros substitutos da sacarose como a sacarina e o aspartame têm a propriedade de afetar a multiplicação bacteriana, sendo que a primeira é particularmente efetiva contra os EGM, assim como também o é o xilitol. O consumo regular de gomas de mascar com xilitol entre as refeições reduz o ataque ácido ao mineral dos dentes, produzindo uma maior diminuição na experiência de lesões de cárie do que a observada pelo uso dos mesmos produtos adoçados com outros alcoóis-açúcares<sup>28</sup>.

Nos últimos anos vários tipos de laser têm sido pesquisados quanto à sua capacidade de alteração físicoquímica da superfície do esmalte dentário, tornando-o mais resistente à ação da placa bacteriana, visando à prevenção de cáries, sendo por este motivo descritos durante este trabalho.

## 4 LASERS EM PREVENÇÃO DE CÁRIES

Juntamente com a evolução dos materiais e das técnicas odontológicas, ocorreu um grande avanço nos aparelhos e equipamentos, surgindo os lasers para uso em odontologia.

A aplicação dos lasers nas estruturas duras do dente tem sido investigada há tempos, porém, apenas em 1964 Stern & Sognnaes reportaram que o esmalte dental poderia ser vaporizado pelo laser de rubi, constatando que este se tomava mais resistente à ação de ácidos desmineralizantes<sup>29</sup>.

Outros estudos foram desenvolvidos com os lasers de rubi, CO<sub>2</sub> e Nd:YAG, entretanto consideráveis danos ao tecido dental foram observados, levando Stern a concluir, em 1972, que os equipamentos e a conduta de aplicação deveriam sofrer mudanças radicais para que estes fossem realmente eficazes<sup>30</sup>. A partir desses primeiros estudos, alguns grupos de pesquisadores se interessaram pelas modificações físicoquímicas ocorridas no esmalte dental em decorrência da aplicação dos vários tipos de lasers em diferentes condições de irradiação.

Os lasers mais estudados, visando à prevenção de cáries por aumento da resistência do esmalte, têm sido os lasers de neodímio (pulsado ou contínuo), argônio, hólmio, CO<sub>2</sub>, e, mais recentemente, o laser de érbio e diodo.

#### 4.1 Interação da Luz Laser com os Tecidos Vivos

Para esclarecer os mecanismos de ação da irradiação laser em tecidos biológicos serão apresentadas as características ópticas do esmalte dental, bem como os principais efeitos da luz laser sobre este.

Quando a luz laser incide em um tecido biológico, uma parte da luz é refletida, parte dela pode ser espalhada dentro do tecido, que em alguns casos leva a danos em regiões distantes da área onde o feixe aparentemente se propaga. Parte da luz remanescente é absorvida, tanto pela água no tecido quanto por algum outro cromóforo absorvedor, como a hemoglobina e a melanina. Finalmente, uma parte da luz pode ser transmitida ao longo de toda a espessura do tecido como representado na Figura 1.

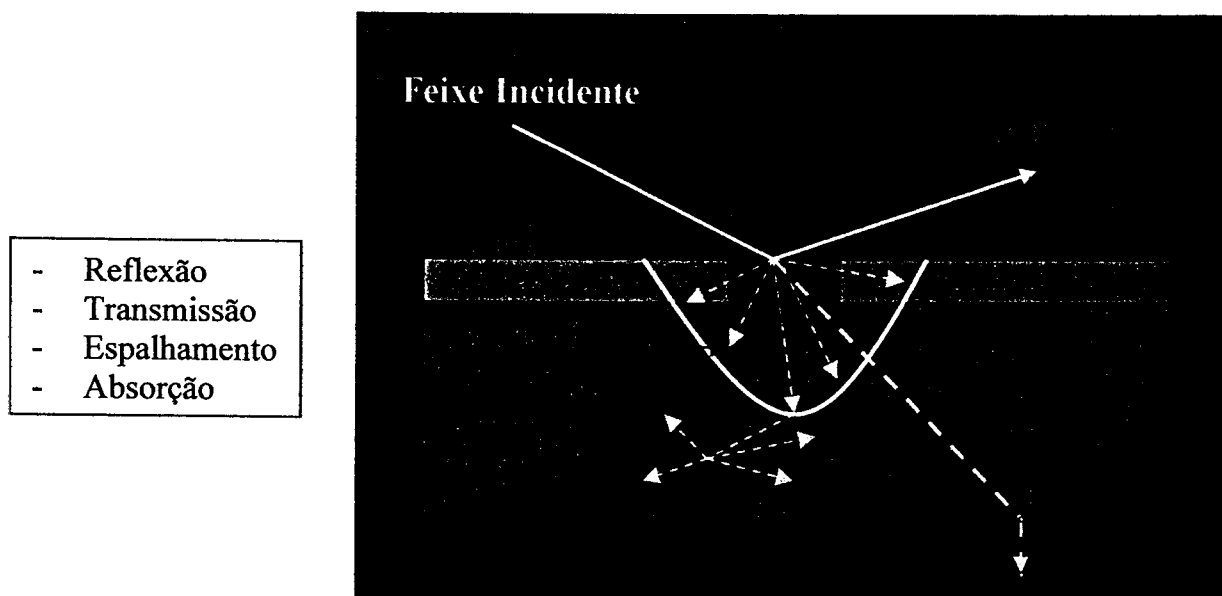


Figura 1 – Interação primária da luz com os tecidos

É importante o reconhecimento de que as interações da luz laser com os tecidos, previamente mencionadas, não são exclusivas, todavia ocorrem comumente em proporções variadas dentro do tecido. Isso pode ser atribuído às substâncias químicas e variações moleculares achadas dentro de sistemas biológicos compostos. Na maioria dos casos, a extensão da interação será proporcional ao nível de absorção do comprimento de onda particular por intermédio de cada tecido, conforme observado na Figura 2.

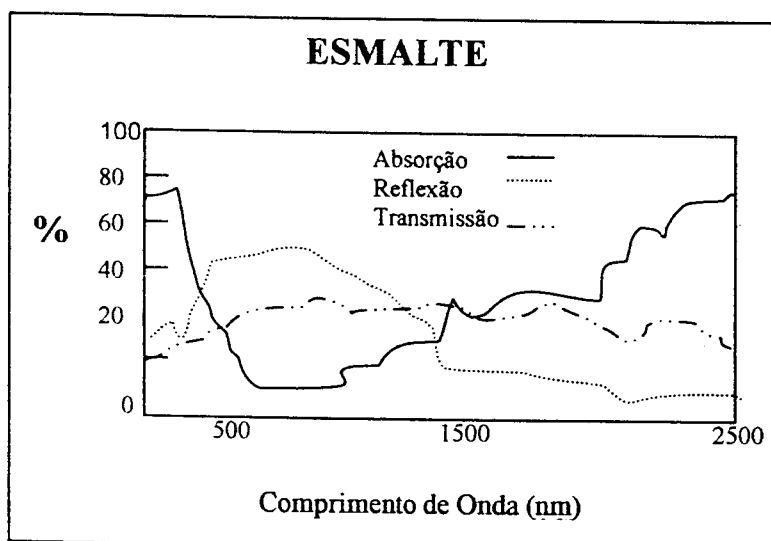


Figura 2 - Análise espectrofotométrica de esmalte (absorção, reflexão e transmissão) de 250 a 2500 nm.

Noventa por cento da luz incidente de um dado comprimento de onda é absorvida em certa profundidade característica conhecida como comprimento de extinção. O comprimento no qual 63% da luz incidente é absorvida denomina-se comprimento de absorção.

Todo tecido tem essa propriedade específica de absorção, ou seja, um dos fatores que influenciará nos efeitos causados pela radiação incidente. Esta

característica de absorção preferencial de comprimentos de ondas específicos de energia por cromóforos dentro dos tecidos possibilita as diversas interações que ocorrem entre a energia da luz laser monocromática e os vários elementos do tecido biológico.

Sistemas biológicos são complexos bem como compostos de uma grande variedade de elementos celulares e fluidos teciduais, cada um com diferentes características de absorção. Uma vez que o corpo humano é em sua maioria constituído por água, a absorção da luz pela água é de fundamental importância para aplicações biomédicas. Os elementos do tecido que exibem um alto coeficiente de absorção de um particular comprimento de onda ou por uma região do espectro são chamados cromóforos. Além da água, cromóforos como a melanina, a hemoglobina, as proteínas, e, no caso de tecidos dentais duros, a hidroxiapatita, exercem influência significativa sobre a interação da radiação e do tecido.

As propriedades ópticas de absorção na região do ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético, em razão do comprimento de onda dos constituintes básicos dos tecidos biológicos duros, como a água e a hidroxiapatita (tecidos de interesse neste trabalho), estão apresentadas na Figura3.

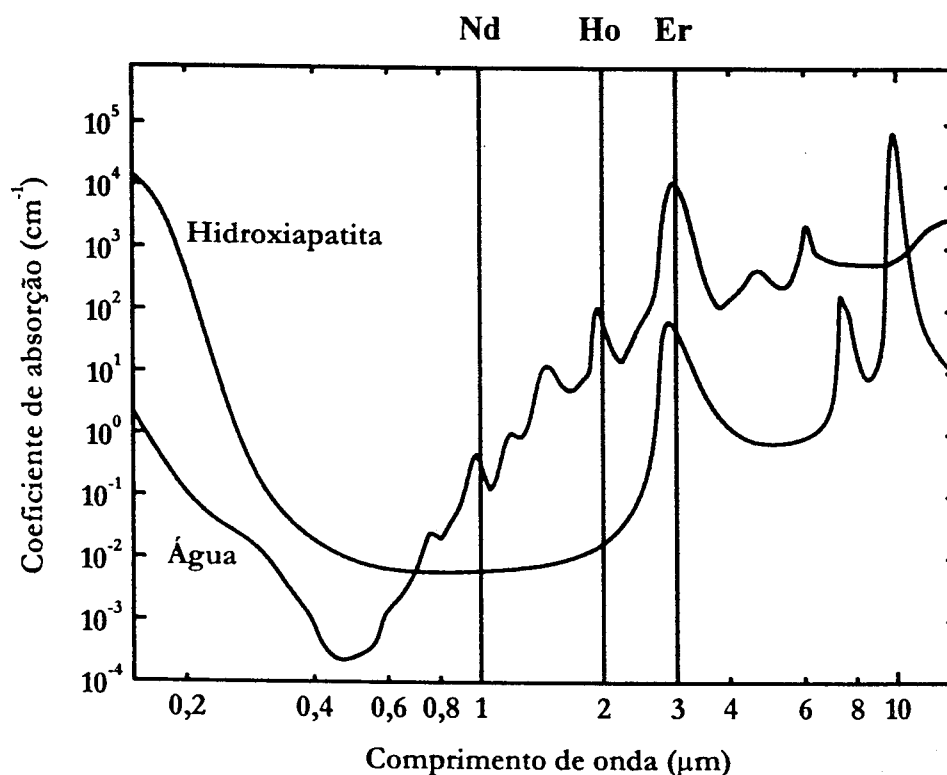


Figura 3 - Espectro de absorção da água e hidroxiapatita para a região do ultravioleta, visível e infravermelho

O laser na prevenção de cáries vai interagir com o esmalte dental, tecido conhecido como o mais mineralizado, sendo constituído por cerca de 96% de mineral e por apenas 4% de material orgânico e água. O conteúdo inorgânico é constituído basicamente por fosfato de cálcio cristalino e hidroxiapatita<sup>31</sup>.

O laser de hólmio operando com emissão em 2,065 $\mu\text{m}$  é bem absorvido pela água e pela hidroxiapatita, este um mineral que possui bandas de absorção no ultravioleta, em 2,94 $\mu\text{m}$ , 7,9 $\mu\text{m}$  e 9,6 $\mu\text{m}$ . Portanto, este laser possui propriedades intermediárias no que se refere à absorção, quando comparado com

o laser de neodímio (emissão em  $1,064\mu\text{m}$ ) e o laser de érbio (emissão em  $2,94\mu\text{m}$ ) (Figura 3).

## 4.2 Tipos de Efeitos da Luz Laser em Tecidos Biológicos

Os efeitos causados pela absorção da radiação laser sobre os tecidos podem ser térmicos, mecânicos e químicos.

Qualquer modelo de um tratamento a laser, seja térmico ou não-térmico, baseia-se na distribuição da luz no tecido. A investigação de como a luz se propaga no tecido requer que sejam considerados a absorção e o espalhamento neste. Não serão levadas em consideração neste trabalho as perdas por reflexão, uma vez que na região de  $2\mu\text{m}$  estas são muito pequenas (Figura 2).

O efeito térmico é resultante da absorção da energia transportada pelo feixe laser pelos tecidos e da degradação local em calor. O tecido aquecido transmite calor para os tecidos circunvizinhos à região de incidência do feixe laser. Dessa forma, deve-se depositar energia suficiente num breve tempo, evitando que o calor se difunda para o tecido vizinho. O efeito térmico está presente em quase todas aplicações de lasers em tecidos duros, resultando em aquecimento, carbonização, ablação ou fusão do material irradiado.

O aquecimento do tecido depende da densidade superficial de energia ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ), podendo causar coagulação, vaporização, corte ou carbonização tecidual.

Essas transformações só ocorrerão se forem alcançados certos níveis de temperatura.

A coagulação ocorre quando o tecido é aquecido a temperaturas superiores a 60° C, provocando, microscopicamente, mudanças estruturais das proteínas teciduais que podem ser observadas macroscopicamente por uma área esbranquiçada.

Os procedimentos cirúrgicos com laser em geral são acompanhados de hemostasia, ou mesmo, em muitas vezes, o laser é utilizado somente com este intuito.

Quando a energia é depositada demasiado rápida, dá-se um aquecimento do tecido acima de 100° C, ocorrendo ebulição da água celular, fenômeno este conhecido como vaporização. Após este processo, a irradiação continuada aumenta a temperatura do material residual, atingindo temperaturas entre 300 °C e 440 °C, em que começa a ocorrer a carbonização tecidual, provocando a saída de gases e fumaças.

Acima de 550° C e na presença de oxigênio atmosférico, o tecido mole se queima e evapora <sup>32</sup>.

Keller & Hibst<sup>33</sup> relatam que uma temperatura de 700° C é suficiente para iniciar a fusão da hidroxiapatita, provocando uma superfície irregular, semelhante a um mosaico, com aspecto vitrificado e formação assemelhada a bolhas.

Os efeitos químicos macroscópicos são provenientes de rompimentos diretos das ligações químicas por meio de comprimentos de onda energéticos na faixa do ultravioleta, como é o caso das cirurgias refrativas em oftalmologia. Outros efeitos fotoquímicos podem ocorrer quando tecidos biológicos são irradiados com lasers em baixa intensidade (LILT - Low Intensity Laser Therapy -) e estão baseados no princípio de que quando a luz interage com células ou tecidos em determinadas doses poderá ocorrer estímulo de certas funções celulares, levando, por exemplo, à aceleração cicatricial de lesões ou à redução da dor<sup>34</sup>.

O principal efeito mecânico em odontologia é a ablação a laser, como é o caso da interação do laser de érbio para preparos cavitários. Outros efeitos mecânicos podem ser provenientes da formação de ondas de choque originárias da produção de fônons no tecido irradiado, por exemplo, o efeito fotoacústico é constatado na ruptura da membrana posterior após a cirurgia de catarata.

É importante ressaltar que tais efeitos químicos, mecânicos ou térmicos podem ocorrer simultaneamente, como durante a ablação do esmalte pelo laser de érbio a qual é mediada pela explosão da água, efeito térmico que provoca a elevação rápida da temperatura desta resultando na ruptura da estrutura dental, este um efeito mecânico.

### 4.3 Laser de Neodímio

Pesquisas foram realizadas descrevendo os primeiros efeitos do laser de Nd:YAG, relatando que a superfície de esmalte irradiada pelo laser ( $10\text{J}/\text{cm}^2$ ) tornava-se mais resistente à descalcificação do que as não irradiadas (controle)<sup>35</sup>. Foi constatado na década de 80 que após quatro dias de desmineralização não houve a presença de formação de cavidade determinando um efeito inibitório de desmineralização promovido pelo laser de neodímio.

Morioka et al.<sup>36</sup>(1988) relataram o potencial preventivo da associação do laser de neodímio com o flúor fosfato acidulado mediante a análises da distribuição de cálcio, fósforo e flúor, pelo método de mapeamento colorido do microscópio de força atômica (EPM), em amostras de esmalte dental irradiadas com laser de neodímio, com densidade de energia entre 0 e  $150\text{ J}/\text{cm}^2$ . Os autores constataram que a distribuição de flúor e cálcio é maior no esmalte tratado com laser e flúor fosfato acidulado em seguida, e que, no entanto, ocorre um decréscimo de fosfato nessas mesmas regiões.

Oho & Morioka (1988) relataram, através de estudos com microscopia de luz polarizada e espectroscopia infravermelha, que as superfícies dentais irradiadas com laser de Nd:YAG e com laser de argônio apresentam menores quantidades de água, substâncias orgânicas e carbonato<sup>37</sup>.

Os mesmos autores, em 1990, relataram que o esmalte, irradiado pelo laser, adquire maior resistência ao ataque ácido<sup>38</sup>. Esta pesquisa baseou-se nas alterações das propriedades ópticas e estruturais do esmalte irradiado com laser de argônio, comparadas ao do esmalte não irradiado. A densidade de energia

utilizada foi de  $67\text{J}/\text{cm}^2$ . Os autores concluíram que o esmalte irradiado apresenta maior permeabilidade e tal aumento pode ser atribuído aos microespaços formados pela remoção de componentes, como água e carbonato durante o processo de irradiação.

Os efeitos da associação do laser de neodímio e do flúor foram estudados por Tagamori & Morioka (1989)<sup>39</sup>. Amostras de esmalte foram irradiadas com laser de neodímio com densidade de energia variando entre 0 e  $100\text{J}/\text{cm}^2$ . Foram avaliados sete grupos neste estudo, sendo que no primeiro foi aplicado somente flúor; no segundo, houve irradiação laser ( $30\text{J}/\text{cm}^2$ ) e posteriormente aplicação de flúor fosfato acidulado; no terceiro grupo foi feito o inverso: primeiro a aplicação de flúor e depois a irradiação laser; no quarto, utilizou-se somente o fluoreto de sódio; no quinto grupo houve irradiação laser seguida de fluoreto de sódio; no sexto grupo foi feito o inverso, sendo o fluoreto aplicado primeiro e em seguida a irradiação laser; e o sétimo grupo permaneceu como controle. Todas as amostras foram expostas a 1 ml de uma solução de ácido perclórico a 0,5M por 30 segundos a temperatura ambiente. O grau de resistência do esmalte ao ataque ácido foi medido pela quantidade de cálcio dissolvido. A conclusão foi que o a amostra irradiada com laser e depois com flúor fosfato acidulado, por 24 horas, foi a mais resistente à ação do ácido perclórico com 90% de inibição da dissolução do cálcio.

A comparação dos efeitos da irradiação com os lasers de Nd:YAG e Ho:YAG na dentina e no esmalte foi realizada em 1994<sup>40</sup>. O estudo encarregou-se de investigar os efeitos destes lasers em dentes humanos extraídos. O laser de

hólmio produziu um orifício limpo na dentina com menor fundição dos tecidos circundantes do que quando utilizado o laser de neodímio, o qual provocou uma fundição considerável e ressolidificação da dentina. Sendo portanto mais difícil controlar os efeitos.

Em 1995<sup>41</sup>, um estudo mostrando o vedamento parcial ou total dos sulcos e das fissuras foi realizado utilizando-se o laser de Nd:YAG (densidade de energia de  $124,3\text{J}/\text{cm}^2$  por pulso) em dentes pré-molares recém-extraídos. A MEV mostrou uma estrutura rugosa com formações de fusão e ressolidificação do esmalte e áreas adjacentes lisas.

Cecchini (1997)<sup>42</sup> estudou o efeito do laser de Nd:YAG no esmalte dental. Cecchini realizou o trabalho *in vitro*, por meio da fluorescência de raios-X e da MEV. Foram avaliadas e comparadas quatro diferentes condições: 1) tratamento com ácido perclórico; 2) aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (APF) seguido de tratamento com ácido perclórico; 3) irradiação com laser de neodímio mais aplicação tópica de flúor fosfato acidulado e tratamento com ácido perclórico; e 4) irradiação com laser de neodímio seguido de tratamento com ácido perclórico. Todas as amostras foram analisadas e quantificadas em relação ao cálcio, fósforo e flúor, antes e depois do tratamento. Os resultados mostraram que houve fusão e recristalização do esmalte, demonstrando um padrão característico de superfície de esmalte irradiada com o laser de neodímio.

Pelino<sup>43</sup> & Cecchini et al.<sup>44</sup>, realizaram um trabalho experimental utilizando quatro grupos de dentes recém-extraídos, onde aplicaram, respectivamente, ácido

perclórico; ácido perclórico e flúor fosfato acidulado; laser de neodímio (80mJ, 25Hz e 99,5J/cm<sup>2</sup>) mais flúor fosfato acidulado e ácido perclórico e laser de neodímio (80mJ, 25Hz e 99,5J/cm<sup>2</sup>) mais ácido perclórico. Em outra fase, alguns dentes foram submetidos a um meio de cultura com estreptococos *mutans* por 15 e 21 dias. O exame com fluorescência de raios-X apontou uma grande resistência das amostras ao ataque ácido e aos estreptococos, não demonstrando cavitações do esmalte.

Recentemente pesquisas realizadas em dentina irradiada pelo laser de neodímio Q-Switched mostram com que a formação de cristais de hidroxiapatita maiores e com menor quantidade de carbonato (CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) justificaria a maior resistência desta dentina aos ácidos e uma melhor prevenção de cáries<sup>45</sup>.

Boari et al. (2000)<sup>21</sup>, avaliaram clinicamente a eficiência do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado em prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças e adolescentes. Nesse trabalho também foi avaliado o pigmento potencializador mais adequado dos efeitos do laser de Nd:YAG sobre o esmalte. Foram selecionados 242 dentes molares e pré-molares, sendo 121 de cada grupo hemiarco bucal, de 33 crianças e adolescentes com idade variando entre 7 e 15 anos. Os dentes selecionados foram divididos em dois grupos e estavam livres de cáries e de manchas de descalcificação ao exame clínico e radiográfico. Os dentes do primeiro grupo, ou seja, do hemiarco direito, foram irradiados com laser de neodímio na presença de um pigmento fotoabsorvedor preparado com carvão em pó misturado a partes iguais de água e álcool. As condições de irradiação foram energia de 60mJ, taxa de repetição de 10Hz, e

densidade de energia de  $84,9\text{J}/\text{cm}^2$ . O laser irradiou áreas dos sulcos por três vezes. Após a irradiação foi aplicado o flúor fosfato acidulado por 4 minutos. No segundo grupo, o do hemiarco esquerdo, foi aplicado somente o flúor pelo mesmo tempo, sendo esses dentes considerados controle. Após um ano ocorreram cáries e manchas brancas consideradas ativas. O resultado final mostrou que houve diferença estatisticamente significativa em um nível de 1% entre os grupos laser + flúor e o grupo-controle. Nesse trabalho a técnica utilizada pode ser considerada como um método alternativo para a prevenção de cáries oclusais.

Mais recentemente, Zezell et al. (2001)<sup>46</sup>, comprovaram a eficiência do laser de neodímio na prevenção de cáries quando em associação com o flúor fosfato acidulado. Nesse trabalho ficou evidente a diferença estatística entre o grupo tratado com laser e flúor e o grupo em que não foi utilizado o laser, sendo o risco relativo de desenvolver cárie maior no grupo apenas tratado com laser.

Estudos foram realizados nessa mesma época para avaliar o poder de fusão do laser de neodímio pulsado, quando utilizado em superfícies de esmalte cobertas com hidroxiapatita e esmalte em pó. Este laser, devido ao seu comprimento de onda de  $1.064\text{nm}$ , não é bem absorvido pela hidroxiapatita e pelo esmalte, e por essa razão foi misturado o carvão vegetal a esses componentes para aumentar o poder de absorção do laser. Foram utilizadas 15 amostras de esmalte planas cobertas por três diferentes substâncias: 1) hidroxiapatita misturada com carvão vegetal; 2) esmalte em pó misturado com carvão vegetal; e 3) carvão vegetal. Superfícies planas foram usadas para determinar a fusão da hidroxiapatita e do esmalte em pó nessas amostras. Todas as amostras foram

irradiadas com o laser de neodímio com  $131\text{J}/\text{cm}^2$ . O laser foi utilizado em modo contato. As superfícies irradiadas foram examinadas morfológicamente pela Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), e como resultado observou-se que os componentes de hidroxiapatita e esmalte em pó foram fundidos sobre as superfícies de esmalte, porém não uniformemente<sup>47</sup>.

A ação do laser de Nd:YAG em prevenção de cáries também foi avaliada observando-se mudanças físicas e morfológicas do esmalte dental. Foram utilizadas 30 amostras de esmalte dental humano divididas em dois grupos. Os parâmetros utilizados foram: 73mJ e 10ns. Foram realizados testes de fluorescência de raios-X, a observância pela MEV e medidas de microdureza Vickers. Os resultados obtidos são coincidentes com outros estudos, indicando grandes proporções de Ca/P nos grupos irradiados com laser de neodímio, em comparação ao grupo-controle. Este trabalho sugere que o uso do laser de neodímio em superfície de esmalte contribui para o aumento da dureza e diminui a perda mineral do dente atacado por bactérias<sup>48</sup>.

#### 4.4 Laser de CO<sub>2</sub>

O primeiro estudo *in vivo*, realizado com o laser de CO<sub>2</sub> superpulsado em esmalte, foi com uma densidade de energia de 10 e  $15\text{J}/\text{cm}^2$ . Os espécimes tanto de controle como irradiados foram colocados em meio que simulasse o ambiente oral por quatro semanas, para que o grau de desmineralização do esmalte pudesse ser avaliado. Exames por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura

mostraram que a porção de esmalte exposta ao laser permaneceu relativamente intacta. A região adjacente de controle mostrou evidências de típica desmineralização de subsuperfície característica de cárie dental incipiente, exibindo prismas de esmalte com vários degraus de defeitos microscópicos<sup>29</sup>.

O laser de CO<sub>2</sub> contínuo (10,6µm), assim como o laser de neodímio pulsado (1,064µm), também promove alterações físicas na superfície estrutural do esmalte. Em 1980, estudos comprovaram que alterações químicas e físicas ocorriam na estrutura do esmalte irradiado com o laser de CO<sub>2</sub>. Pesquisando a permeabilidade a íons de lâminas de esmalte fatiado de dentes bovinos, observou-se que este se apresentou com maior difusão de íons de um lado para outro depois de os dentes terem sido irradiados, mesmo com densidades de energia que induzissem à fusão desse esmalte<sup>49</sup>.

Uma vez que o esmalte dental apresenta maior absorção na região do espectro infravermelho, de 9,0µm a 11,0µm (Figura 3), e pouca absorção na região de luz visível, autores tentaram correlacionar o melhor comprimento de onda de emissão do laser de CO<sub>2</sub> e a melhor densidade de energia que permitisse maior resistência do esmalte. Concluíram que a condição mais efetiva para aumentar a resistência do esmalte com o laser de CO<sub>2</sub> Q-switched foi o comprimento de onda de 9,3µm associado com densidade de energia de 50J/cm<sup>2</sup>. Pela MEV eles observaram aumento da rugosidade do esmalte irradiado variando com o comprimento de onda utilizado, sendo esta maior com densidade de energia de 50J/cm<sup>2</sup><sup>50</sup>.

Slayton & Wefel (1991)<sup>51</sup> irradiaram metade das superfícies oclusais de 25 dentes molares com laser de CO<sub>2</sub> pulsado, densidade de energia de 10J/cm<sup>2</sup>, permanecendo outra metade não irradiada. Houve redução de desmineralização do grupo irradiado, em relação ao controle, ao redor de 40%, quando associado ao flúor.

Trabalhos utilizando o laser de CO<sub>2</sub> com comprimento de onda em 10,6µm também obtiveram uma menor desmineralização diante dos ácidos no esmalte irradiado<sup>52,53</sup>. Foram avaliados vários comprimentos de onda de emissão do laser de CO<sub>2</sub> (9,3µm; 9,6µm; 10,3µm e 10,6µm), com irradiação de esmalte por 25 pulsos de 100µs de largura temporal e densidade de energia de 0 a 6J/cm<sup>2</sup>, quanto ao potencial desses comprimentos de onda em diminuir a solubilidade do esmalte dental. Para os autores, as alterações químicas que ocorrem no esmalte dental, como a perda do componente carbonato e a diminuição da reatividade do esmalte, são responsáveis pela maior resistência ao ácido do esmalte irradiado. A maior perda de carbonato ocorreu com comprimentos de onda de 9,3µm e 9,6µm e densidade de energia de 4J/cm<sup>2</sup>. Esses comprimentos de onda requerem menor quantidade de energia laser que os de 10,3µm e 10,6µm para o mesmo efeito final no esmalte dental<sup>54</sup>.

Em 1997 o laser de CO<sub>2</sub> pulsado com os comprimentos de onda de 9,3µm; 9,6µm; 10,3µm e 10,6µm foi empregado. Utilizaram-se pulsos de 25mJ, 50mJ, 100mJ, 200mJ e 250mJ; 10Hz e 25Hz; densidade de energia variando de 1 a

2,5J/cm<sup>2</sup>, para verificar o potencial destes lasers na inibição de cáries artificiais. A diferença entre os coeficientes de absorção do esmalte nos diferentes comprimentos de onda dos lasers de CO<sub>2</sub> é a razão pela qual a energia necessária é menor para o comprimento de 9,6µm produzir o mesmo efeito que o laser de comprimento de onda de 10,6µm. Os autores concluíram que densidades de energias relativamente baixas, de 2,5J/cm<sup>2</sup> a 5J/cm<sup>2</sup>, são suficientes para a inibição de cáries para os comprimentos de onda de 9,3µm e 9,6µm<sup>55</sup>.

Zantorowitz et al. (1998) realizaram um estudo onde tentaram correlacionar o potencial de prevenção do laser de CO<sub>2</sub> pulsado com o número de pulsos. Foram irradiados dentes molares não erupcionados com laser de CO<sub>2</sub> em dois diferentes comprimentos de onda: 10,6µm e 9,6µm com 1, 5, 25 e 100 pulsos. As amostras foram colocadas em situação que simulassem a progressão de cáries. Os lasers pulsados inibiram a progressão de cáries em 87% e os efeitos estão relacionados ao número de pulsos. Observaram que um único pulso promove algum grau de inibição na desmineralização do esmalte e um aumento do número de pulsos aumenta o grau desta inibição. Em ambos os comprimentos de onda testados durante este estudo, o número ótimo de pulsos foi menor que 25<sup>56</sup>.

Efeitos da desmineralização no esmalte tratado com laser de CO<sub>2</sub> contínuo (10,6µm), foram estudados por Hsu et al. Blocos de esmalte foram irradiados com laser contínuo de CO<sub>2</sub>, e densidades de energia variando de 42,5J/cm<sup>2</sup> a 170J/cm<sup>2</sup>. As amostras foram então expostas a soluções desmineralizantes, parcialmente saturadas, com ou sem 0,2ppm de flúor a 30° C por 24 horas. O grau de desmineralização foi analisado qualitativamente por microscopia de luz.

polarizada e quantitativamente por microradiografia. A comparação entre as proporções irradiadas do esmalte ou aumento da acidorresistência, proporcionalmente ao aumento da densidade de energia usada. Quanto maior a densidade de energia, menor o desenvolvimento de lesões de desmineralização, sobretudo na presença de flúor<sup>57</sup>.

O efeito causado pela irradiação com comprimento de onda do laser de CO<sub>2</sub> (10,6µm) contínuo foi verificado em esmalte e dentina de dentes humanos extraídos. Os parâmetros de irradiação utilizados foram: de 1W por 30s no modo contínuo, direção de irradiação perpendicular à superfície do dente e a uma distância de 5cm da amostra à ponta da peça de mão do laser; o diâmetro da fibra utilizada foi de 1mm. A proposta deste trabalho foi a de verificar a resistência do esmalte e da dentina tratados com fluoreto de nitrato de prata e irradiados com laser de CO<sub>2</sub>, diante do ataque ácido, *in vitro*. Utilizaram-se 80 incisivos para estudar o esmalte e 80 molares para estudar a dentina. As amostras foram divididas em quatro grupos: controle (sem tratamento); somente tratadas com flúor; somente tratadas com laser de CO<sub>2</sub>; e tratadas com laser de CO<sub>2</sub> após o tratamento com o flúor. Cada amostra foi imersa em 2ml de solução de ácido láctico a 0.1 mol/ L, pH 4.8, por 24 horas a 37° C e 100% de humidade. A proporção de íons cálcio dissolvidos em cada solução em partes por milhão (ppm) foi determinada por uma análise de espectrometria de absorção atômica. As amostras foram também observadas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV). Como resultados, os autores tiveram uma menor perda de íons cálcio nas amostras tratadas com laser após o tratamento de flúor. Já na microscopia eletrônica de varredura foi observado que as amostras adquiriram um aspecto de

fundição, de alisamento e vitrificação, sugerindo com isso uma maior resistência ao ácido. Os autores concluíram, então, que a solução de fluoreto de nitrato de prata melhora a eficiência do efeito do laser de CO<sub>2</sub> 10,6µm, contínuo, desfocalizado, na prevenção de cáries<sup>58</sup>.

#### 4.5 Laser de Argônio

Em 1977, foi sugerida a possibilidade de o laser de argônio ser utilizado na prevenção de cáries, especialmente se associado ao fluoreto de sódio pois, segundo os autores, além de aumentar a concentração de flúor sobre o esmalte dental irradiado, houve diminuição acentuada do grau de dissolução do esmalte dental em soluções ácidas, quando comparadas as amostras às do esmalte dental do grupo-controle<sup>59</sup>.

O laser de argônio pode ser eficiente para diminuir a descalcificação do esmalte dentário. Dentes pré-molares com extração indicada foram irradiados com esse laser, com densidade de energia de 12J/cm<sup>2</sup>, e foram preservados os dentes homólogos para controle. Os autores prepararam uma banda ortodôntica para retenção de placa em cada um dos dentes. Após cinco semanas as bandas foram removidas, e os dentes foram extraídos. O esmalte foi examinado com microscópio de luz polarizada. Nesse estudo foi conseguida redução de descalcificação de 29,1% dos dentes irradiados em relação aos dentes-controle<sup>60</sup>.

Anderson et al. (2000), conseguiram aumentar a prevenção de cáries artificiais em até 29% com o laser de argônio de baixa intensidade de energia ( $11,5\text{J}/\text{cm}^2$ ), associando-o ao fluoreto de sódio. Quando utilizaram o mesmo laser com o flúor fosfato acidulado, conseguiram uma diminuição na formação de cáries de 25%<sup>61</sup>.

#### 4.6 Laser de Érbio

Mais recentemente, o laser de érbio, tem sido estudado em relação ao seu potencial preventivo. Algumas pesquisas mostraram que ele produz alterações químicas no esmalte dental semelhantes àsquelas alterações produzidas no esmalte dental pelo laser de Nd:YAG ( $1,064\mu\text{m}$ ) e que a acidorresistência adquirida na superfície e na subsuperfície do esmalte é maior com o laser de érbio do que com o laser de neodímio. Na presença de pigmentos fotoabsorvedores pretos, o laser de érbio produz uma acidorresistência maior do que na presença de pigmentos brancos, e estes últimos causam menor grau de alterações no esmalte<sup>62</sup>.

Os lasers de Er:YAG ( $2,94\mu\text{m}$ ) e Er:Cr:YSGG ( $2,79\mu\text{m}$ ), em diferentes condições de energia, apresentam potencial tanto para a remoção de tecido cariado como para a prevenção de cáries, segundo Fried et al.<sup>63</sup>, Eduardo et al.<sup>64</sup> e Eduardo et al.<sup>65</sup>

Recentemente foi testado o laser de Er:YAG (2,94 $\mu$ m) para a prevenção de cáries na presença ou não de jato de água, a energia por pulso utilizada foi de 400mJ e taxa de repetição de 2Hz por 5 segundos, a uma distância focal de 2cm, obtendo como resultados alterações que propiciaram maior acidorresistência do esmalte irradiado na ausência de água em relação às amostras do grupo-controle<sup>66</sup>.

Uma investigação quanto à resistência do esmalte e da dentina ao ataque ácido foi realizada por Hossain et al. utilizando-se o laser de Er:Cr:YSGG (2,79 $\mu$ m). As amostras de esmalte e dentina foram irradiadas por este laser a uma potência média de 6W e 5W, com ou sem água. As amostras foram então submetidas a uma solução de 2 ml de 0.1M de ácido láctico (pH 4.8), por 24 horas e a 36 °C. A concentração de cálcio diluído nesta solução foi medida por espectrometria de absorção atômica e as mudanças morfológicas foram observadas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV). A menor perda de íons cálcio foi registrada nas amostras irradiadas sem a presença de água, e a MEV mostrou que as áreas irradiadas tiveram fusão e pareceram estar termicamente degeneradas. Após a desmineralização com o ácido, a degeneração térmica do esmalte e da dentina não sofreu alterações. Nestas condições o laser de Er:Cr:YSGG, com ou sem a presença de água, parece ser mais efetivo na prevenção de cáries<sup>67</sup>.

## 4.7 Laser de Diodo

Os lasers de diodo de alta potência, emitindo na região do infravermelho próximo, estão sob investigações na odontologia em procedimentos similares aos do laser de neodímio. Uma das principais diferenças atribuídas a estes dois lasers é a tecnologia empregada, tendo o laser de diodo as vantagens de ser um equipamento de menor dimensão e de custo mais baixo.

Estudos realizados com o laser de diodo (960nm) examinaram as modificações estruturais induzidas no esmalte dental. Para possibilitar aplicações *in vivo*, foram usados parâmetros os quais manteriam a temperatura pulpar abaixo do limiar de danos. Para esta proposta foram irradiadas dez amostras de esmalte dental preparadas igualmente, mantidas a 36,5° C e medida a elevação da temperatura. Os parâmetros de irradiação foram de 6W pulsos de 10ms, utilizando-se uma fibra de 340µm de diâmetro e modo contato. Uma camada de corante foi aplicada na superfície do esmalte anteriormente à irradiação. A Microscopia Eletrônica de Varredura mostrou uma ressolidificação homogênea da camada de esmalte e a ausência de ablação. A análise da temperatura estabeleceu limites para o tempo de irradiação e a taxa de repetição. Concluíram os autores que o laser de diodo pode promover fusão da superfície do esmalte acompanhada por uma elevação de temperatura insignificante<sup>68</sup>.

## 4.8 O Laser de Hólmio

Os lasers de hólmio são lasers de matrizes sólidas dopados com terras-raras. Dentre as matrizes hospedeiras ou meios ativos a serem dopados com terras-raras, encontramos o YAG ( $Y_3Al_5O_{12}$ : óxido de ítrio alumínio), o YLF ( $YLiF_4$ : fluoreto de ítrio lítio) e o YVO ( $YVO_4$ : óxido de ítrio vanádio). O  $YLiF_4$  (YLF) tem-se mostrado uma importante alternativa como matriz hospedeira, por apresentar características térmicas e estruturais que permitem a obtenção de uma qualidade de feixe superior ao YAG. A terra-rara hólmio pode dopar cristais de óxidos de estrutura ordenada como o YAG, fluoretos simples de estrutura ordenada como o YLF, entre outros óxidos, e fluoretos mistos de estrutura desordenada. O íon ativo  $Ho^{+3}$  apresenta quatro níveis de fluorescência, o que leva a um aumento da energia de limiar para este íon com relação ao neodímio, que apresenta apenas um nível de fluorescência.

O bombeamento de um laser de estado sólido pulsado é efetuado por um laser de diodo semicondutor ou por lâmpadas de baixa pressão, como a lâmpada de xenônio. A energia necessária para o bombeio é armazenada pela fonte de alimentação (capacitores). A formação do pulso de descarga é produzida por capacitores e indutores, para que haja a máxima transferência de energia. Para cada pulso laser, a energia necessária para o bombeio é transferida da fonte de alimentação para a lâmpada em um curto intervalo de tempo.

O laser de hólmio de interesse para aplicações na área de saúde emite comprimento de onda no infravermelho, necessitando portanto de luz guia como um laser de hélio neônio vermelho, e pode ser transmitido por uma fibra de quartzo com baixo teor de radical hidroxila. Este laser, bem como o de neodímio, pode ser utilizado na odontologia com emissão pulsada, com a fibra em contato ou não com o tecido a ser irradiado.

A absorção do comprimento de onda de emissão de determinado laser depende das propriedades específicas de cada tecido, sua pigmentação e porcentagem de água. O comprimento de onda de emissão do laser de Ho:YLF, 2,065 $\mu$ m, coincide com um dos picos de absorção da água, o que propicia uma menor profundidade de penetração do que quando comparado ao laser de Ho:YAG, que emite em 2,1 $\mu$ m, apresentando maior absorção pela água.

O laser de hólmio apresenta aplicações em comunicações ópticas; telemetria; processos industriais; nas áreas mais diversificadas da medicina e na odontologia. Nas áreas biomédicas este laser tem sido aplicado em: ortopedia, oftalmologia, cardiologia, urologia, ginecologia e otorrinolaringologia<sup>69</sup>.

O primeiro relato da ação do laser de hólmio, com comprimento de onda de 2,065 $\mu$ m, foi em 1962 em estudos realizados por Johnson Boyd & Nassau, nos laboratórios da AT&Bell Telephone, sob condições de bombeamento com lâmpada<sup>70</sup>.

Na ortopedia, a primeira tentativa de utilização do laser foi feita em 1973, começando a ser usado em cirurgias artroscópicas e experimentalmente em tecido ósseo<sup>71</sup>.

Jonhson et al. (1992) relatam a aplicação do laser de hólmio em urologia. E mostraram que o hólmio obtém um adequado controle hemostático em todos os procedimentos realizados, entre os quais nefrectomia parcial e incisão transuretral da próstata. Esse estudo foi realizado em cães, e embora os resultados fossem preliminares, foram considerados favoráveis<sup>72</sup>.

Devido ao seu comprimento de onda de 2,065 $\mu$ m, próximo ao pico de absorção da água, o laser de hólmio tem capacidade de ser absorvido por esta e apresenta afinidade com a hidroxiapatita, sendo indicado para a utilização em tecidos duros. Pela sua capacidade também de coagulação, tornou-se uma excelente escolha em cirurgias de precisão em cartilagens e tecidos duros similares, cirurgias orais maxilofaciais, artroscopia da articulação temporomandibular e na utilização em tecidos moles<sup>73,74</sup>.

Por ser mais bem absorvido pela água do que o laser de neodímio, o laser de hólmio causa menor dano térmico, produzindo zonas de necrose máxima da ordem de 50 micrômetros. Este laser é menos eficiente do que os lasers de érbio e excimer na remoção da estrutura dura dental, conduzindo a uma especulação de que o laser de hólmio causaria um aumento de temperatura na estrutura dental. Apesar de o laser de érbio causar menor dano térmico quando utilizado com refrigeração, devido ao seu comprimento de onda, o laser de hólmio apresenta

uma vantagem sobre ele, que é a de não sofrer perdas significativas de energia na fibra quando numa emissão na região de  $2\mu\text{m}$ . A grande dificuldade em desenvolver este laser para a ablação dental de tecidos duros é a de limitar o dano térmico para a polpa e minimizar o dano térmico na ablação do esmalte para a adequada adesão de materiais restauradores<sup>75</sup>.

Altshuler et al. (1992)<sup>76</sup> realizaram um estudo comparativo dos danos causados no dente irradiado por lasers de hólmio, érbio e neodímio. O trabalho mostrou que o menor limiar prejudicial e a eficiência do laser em funcionamento correspondem ao laser de érbio. Os piores parâmetros corresponderam ao laser de neodímio, ficando o laser de hólmio em uma posição intermediária. Apesar de o laser de hólmio ter causado mais rachaduras no dente do que o laser de érbio, ele demonstrou algumas vantagens, tais como: remoção do esmalte em um único disparo, demonstrando uma maior velocidade de perfuração e uma dinâmica de funcionamento de maior alcance quando comparado ao laser de érbio.

A ablação da dentina e do esmalte é possível de ser realizada com o laser de hólmio, provocando fusão e ressolidificação em uma parte do esmalte irradiado. Como outros lasers, o hólmio pulsado também necessita ser operado com refrigeração para não causar danos mecânicos como fissuras e fraturas. Estes efeitos podem ser um fator limitante na utilização desse laser. O que poderia diminuir estes efeitos indesejáveis seria uma modificação na duração dos pulsos, a utilização de refrigeração a água, ou utilizá-lo somente com o intuito de provocar apenas fusão de esmalte<sup>67</sup>.

A redução bacteriana e a remoção de esfregaço do interior do canal foram estudadas com a utilização do laser de hólmio e de neodímio. Foi demonstrado mais recentemente que o laser de Ho:YAG alcança um efeito bactericida intrapulpal em iguais proporções a outros lasers. A MEV mostrou a superfície dentinária radicular limpa, sem camada de esfregaço e com túbulos dentinários abertos. Os autores tendo conseguido estes resultados, concluíram que o laser de hólmio pode ser utilizado também como coadjuvante em tratamento endodôntico<sup>77,78</sup>.

A ação dos lasers de neodímio, hólmio e érbio foi comparada em canais infectados, em que 40 dentes foram infectados por *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*. A atuação destes três lasers foi efetiva reduzindo a população das bactérias. A diferença da capacidade de redução bactericida não foi muito diferente entre estes três diferentes comprimentos de onda, tendo um melhor resultado o laser de érbio, com 99,64% de redução bacteriana, seguido pelo laser de neodímio, com 99,16%, ficando o laser de hólmio com 99,05%.<sup>79</sup>

Em relação ao aumento da temperatura provocada na superfície externa radicular, Cohen et al. utilizaram o laser de hólmio intracanal, por intermédio de uma fibra óptica de 245µm de diâmetro, fazendo com que a fibra percorresse o conduto de apical para cervical, com velocidade de 4mm/segundo. Utilizando-se potências médias e freqüências de 0,5W e 5Hz; 0,75W e 0,5Hz e 1W e 5Hz, não houve aumento de temperatura maior que 5° C na região do cimento, sendo este resultado muito promissor para a utilização deste laser intracanal.<sup>80</sup>

As alterações de temperatura no interior da câmara pulpar, utilizando-se o laser de Ho:YLF, também foram estudadas por Zezell et al., em 1996. Esse estudo foi realizado na superfície de esmalte de dentes humanos recém-extraídos. O ápice radicular foi removido por meio dele foi introduzido um termopar. No grupo I, esvaziou-se a cavidade pulpar, no grupo II, preencheu-se a cavidade com uma pasta para simular a condução de calor que seria obtida pela circulação sanguínea no interior da polpa. Os parâmetros de irradiação em ambos os grupos foram: 500mJ/pulso, com 30 pulsos, na mesma posição e com densidades de energia de 2.079J/cm<sup>2</sup>. Como resultados obteve-se um aumento de temperatura maior no grupo II, de 3,8° C, e no grupo I, de 2° C. Ambos os resultados permaneceram dentro dos limiares de tolerância de elevação de temperatura aceitos pela polpa<sup>81</sup>.

Ashouri et al. (2001)<sup>82</sup> realizaram uma pesquisa demonstrando que o "spray" de água pode aumentar a velocidade de ablação dos tecidos duros dentais por alguns lasers e reduzir o acúmulo de calor. A influência da água na velocidade de ablação tem sido investigada para comprimentos de onda nos quais a água é o principal componente absorvedor e a magnitude da absorção varia visivelmente. A água foi aplicada manualmente por um pipete, e o esmalte foi cortado em blocos usando-se um sistema de varredura a laser. Os efeitos do laser de Er:Cr:YSGG (Q-switched – 2,79µm), do Er:YAG (2,94µm), do Ho:YAG (2,09µm) e o laser de CO<sub>2</sub> (9,6µm) foram investigados. A adição de água aumentou a taxa de ablação e produziu uma superfície mais desejável morfológica durante a ablação do esmalte em todos os sistemas do érbio. A ablação foi visivelmente mais eficiente no laser de érbio (Q-switched–100J/cm<sup>2</sup>)

do que nos sistemas laser de intervalos mais longos, quando a camada de água foi adicionada. Embora a adição de uma camada mais espessa de água tenha reduzido a ablação durante a irradiação com o laser de CO<sub>2</sub> (70J/cm<sup>2</sup>), ao mesmo tempo ela removeu indesejáveis depósitos de minerais da superfície da cratera. Após a irradiação com o laser de Ho:YAG (150J/cm<sup>2</sup>), houve um dano periférico à área irradiada, com ou sem a adição de água, e sem uma efetiva ablação do esmalte.

#### 4.8.1 O laser de hólmio na prevenção de cáries

O estudo das mudanças morfológicas na superfície do esmalte, após a irradiação com o laser de hólmio, foi reportado por Matsumoto et al. (1990), em que perfurações superficiais no esmalte foram obtidas <sup>83</sup>.

O laser de Ho:YAG mostra-se promissor quanto a modificações físicas no esmalte dentário, pois estudos mostram que a microdureza da superfície do esmalte irradiada pelo laser de Ho:YAG pode aumentar em 16% em relação aos controles dependendo das condições de irradiação <sup>84</sup>.

Segundo Goodis et al., o laser de hólmio e o de neodímio atuam na remoção da camada de resíduos de *smear layer* e na redução de microrganismos no canal radicular <sup>85</sup>.

White et al. (1993) realizaram um estudo, onde as modificações na superfície dentinária produzidas pelo laser de Nd:YAG (1,06µm e 1,32µm), apresentaram uma coloração escurecida. O laser de Ho:YAG (2,10µm) produziu

superfícies de aparência clara. Isto pode identificar uma melhor combustão do colágeno, sem carbonização. A Microscopia Eletrônica de Varredura mostrou alterações morfológicas com densidades de energia relativamente baixas de:  $207\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $165\text{J}/\text{cm}^2$  e  $83\text{J}/\text{cm}^2$ . Estes lasers de hólmio e neodímio mostraram-se promissores na modificação da estrutura dentinária<sup>86</sup>.

Os resultados dos estudos com o laser de Ho:YAG, no comprimento de onda de  $2,12\mu\text{m}$ , comprovaram que ele pode ser eficientemente usado para atacar a superfície dentária<sup>87</sup>.

A capacidade do laser de hólmio de remover tecido dentinário foi verificada correlacionando energia *versus* volume removido. O laser utilizado neste trabalho foi o de Ho:YAG ( $2,1\mu\text{m}$ , largura de pulso de  $100\mu\text{s}$ , fibra de  $400\mu\text{m}$  de diâmetro). Foram irradiados dentes humanos com energias de 25mJ a 1750mJ. As regiões irradiadas foram analisadas por MEV, e como resultados obtiveram-se energias de 25mJ, 55mJ, 75mJ, 100mJ e 135mJ, as quais não causaram crateras suficientemente profundas para a análise utilizando-se estereofotogrametria. Esta análise somente foi possível nas energias entre 150mJ e 1500mJ. Crateras bastante irregulares para esta análise foram produzidas por energias de 195mJ, 275mJ e 330mJ. O laser de Ho:YAG foi portanto capaz de promover ablação da dentina, estando o grau de ablação relacionado aos valores de densidade de energia empregados<sup>88</sup>.

O comprimento de onda do laser de hólmio se mostra mais capaz que o do laser de neodímio, de cortar o esmalte e a dentina, sendo que considerável fusão

e recristalização do esmalte ocorre quando da irradiação do esmalte por estes lasers.

De acordo com pesquisas anteriores realizadas no Centro de Lasers e Aplicações do IPEN, a irradiação de sulcos e fissuras com o laser de Ho:YLF, emitindo comprimento de onda de  $2,065\mu\text{m}$ , pode ser útil em prevenção de cáries causando vaporização de substâncias orgânicas e atacando o esmalte, promovendo assim uma melhor adesão de selantes <sup>2,3</sup>. Estudos foram realizados utilizando-se o laser de hólmio para mudar as propriedades físicas do esmalte, medindo-se as mudanças de microdureza a fim de melhorar a resistência do esmalte à desmineralização<sup>7</sup>. Tal aumento da microdureza do esmalte correspondeu também a uma mudança nas propriedades químicas verificada por uma maior resistência ao desafio ácido ocorrida quando as amostras foram expostas ao ácido perclórico, em que a perda de átomos de cálcio foi menor do que a do grupo-controle, indicando portanto a possibilidade de o laser de hólmio também ser utilizado em prevenção de cáries.

Do mesmo grupo de pesquisa, Strefezza em sua tese de mestrado, de 2001, estudou as mudanças físicas *in vivo* do laser de hólmio em esmalte dental verificando a ausência de inflamação pulpar causada pela irradiação com o laser de Ho:YLF na superfície oclusal de dentes de coelhos. Os pré-molares e molares de dez coelhos foram divididos em dois grupos de acordo com os valores de energia emitida por um dos protótipos de laser de Ho:YLF desenvolvidos no IPEN ( $2,065\mu\text{m}$ ), taxa de repetição de 0,5Hz e largura temporal  $250\mu\text{s}$  entregues por uma fibra óptica de baixo teor de OH, com  $365\mu\text{m}$  de diâmetro. O grupo A foi

irradiado com dez pulsos de 300mJ, e o grupo B, com dez pulsos de 500mJ. A monitoração da temperatura *in vitro* revelou uma elevação de temperatura de 1° C para a energia de 300mJ/pulso, 0,5Hz correspondendo à fluência de 286,7J/cm<sup>2</sup> e 4,5° C para a de 500mJ/pulso, 0,5Hz correspondendo à fluência de 477,8J/cm<sup>2</sup>. Foi observada por MEV a ocorrência de fusão e ressolidificação na superfície dental. A partir das análises *in vivo* pode-se concluir que ambos os parâmetros empregados não induziram nenhuma resposta inflamatória pulpar<sup>8</sup>.

Com base em resultados citados anteriormente, este trabalho pretende verificar a viabilidade de uso do laser de hólmio na prevenção de cáries.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Preparação das Amostras

Os 20 dentes incisivos de bovinos foram seccionados com instrumento rotatório diamantado em alta rotação tendo a sua parte coronária separada da radicular. Foi realizada, uma profilaxia das amostras com pasta de pedra-pomes e água e taça de borracha, lavando-as em seguida com jatos de água e ar, provenientes de uma seringa tríplice e, em seguida, secas com papel toalha.

Após este procedimento as amostras foram mantidas em soro fisiológico (NaCl 1%) para que mantivessem as condições de hidratação semelhantes àquelas encontradas no meio bucal. Em seguida, elas foram incluídas em fôrma para gelo com resina transparente (Resina BUEHLER, EUA, Solvente n.º 20-3568, SAMPL-KWICK LIQUID) com a face vestibular voltada para cima. Na seqüência foi realizado um corte com uma serra de disco diamantado marca EXTEC (tipo Labcut 1010) removendo uma fatia bem fina da resina na face vestibular, para que o esmalte ficasse exposto e pudéssemos, então, com o uso de uma seqüência de lixas de textura decrescente de 400, 600 e 1000, 2000, 4000 e feltro com alumina, deixar essa superfície a ser irradiada plana e polida, sem ao mesmo tempo expor tecido dentinário. Este foi um fator de grande importância, uma vez que o objetivo é apenas medir propriedades do esmalte e não da dentina.

## 5.2 Tratamento das Amostras

Tabela 1– Tratamento das amostras

5 amostras de esmalte dentário bovino (grupo-controle)	flúor fosfato acidulado (APF) (24hs)	ácido láctico 0.1 mol/L pH 4.8 (6hs)
5 amostras de esmalte dentário bovino irradiadas com laser de Ho:YLF com 100J/cm <sup>2</sup>	flúor fosfato acidulado (APF) (24hs)	ácido láctico 0.1 mol/L pH 4.8 (6hs)
5 amostras de esmalte dentário bovino irradiadas com laser de Ho:YLF com 350J/cm <sup>2</sup>	flúor fosfato acidulado (APF) (24hs)	ácido láctico 0.1 mol/L pH 4.8 (6hs)
5 amostras de esmalte dentário bovino irradiadas com laser de Ho:YLF com 450J/cm <sup>2</sup>	flúor fosfato acidulado (APF)	ácido láctico 0.1 mol/L pH 4.8

Em cada uma das amostras dos quatro grupos (Tabela 1), foi colocada uma bolinha de algodão umedecida em flúor fosfato acidulado (APF – 2% NaF; 0,68M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; pH 5,3) e deixada por 24 horas. Após este período as amostras foram lavadas em água destilada.

Em seguida todas as amostras foram atacadas por ácido láctico (0.1 mol/L, pH 4.8) com o auxílio de uma bolinha de algodão umedecida neste, e deixando-se sobre as amostras durante seis horas. Após este período as amostras foram lavadas em água destilada por um período de aproximadamente 10 minutos. O ataque com ácido láctico teve como objetivo verificar o grau de desmineralização promovido em cada grupo.

### 5.3 Laser de Er:Tm:Ho:LiYF<sub>4</sub>

O laser utilizado neste estudo foi um protótipo de laser de hólmio desenvolvido no Centro de Lasers e Aplicações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN/CNEN-SP. O protótipo é um laser de estado sólido, com cristal de Er:Tm:Ho:LiYF<sub>4</sub> bombeado por lâmpadas de xenônio que opera a uma frequência máxima de 1Hz. A refrigeração do laser é realizada por um sistema primário composto por água resfriada a 10° C. Esta água está em contato térmico com um circuito secundário de água deionizada que circula em regiões circunvizinhas ao cristal (Figura 5).

Para que não ocorra a condensação de água nas faces do bastão existe um ambiente à base de nitrogênio que mantém um ambiente inerte e livre de umidade circunvizinho ao cristal. O laser de He-Ne com emissão no vermelho é utilizado como feixe guia para o laser de hólmio.

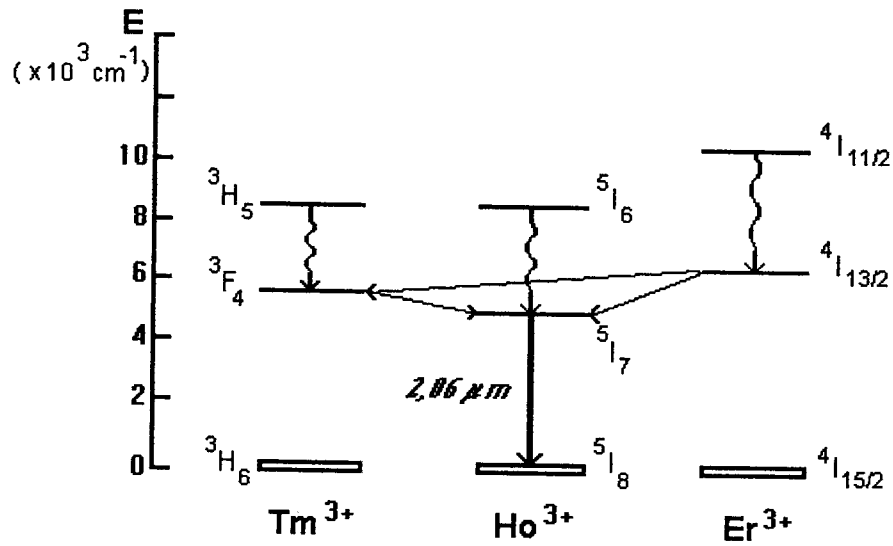


Figura 4 – Diagrama dos níveis de energia<sup>89</sup>

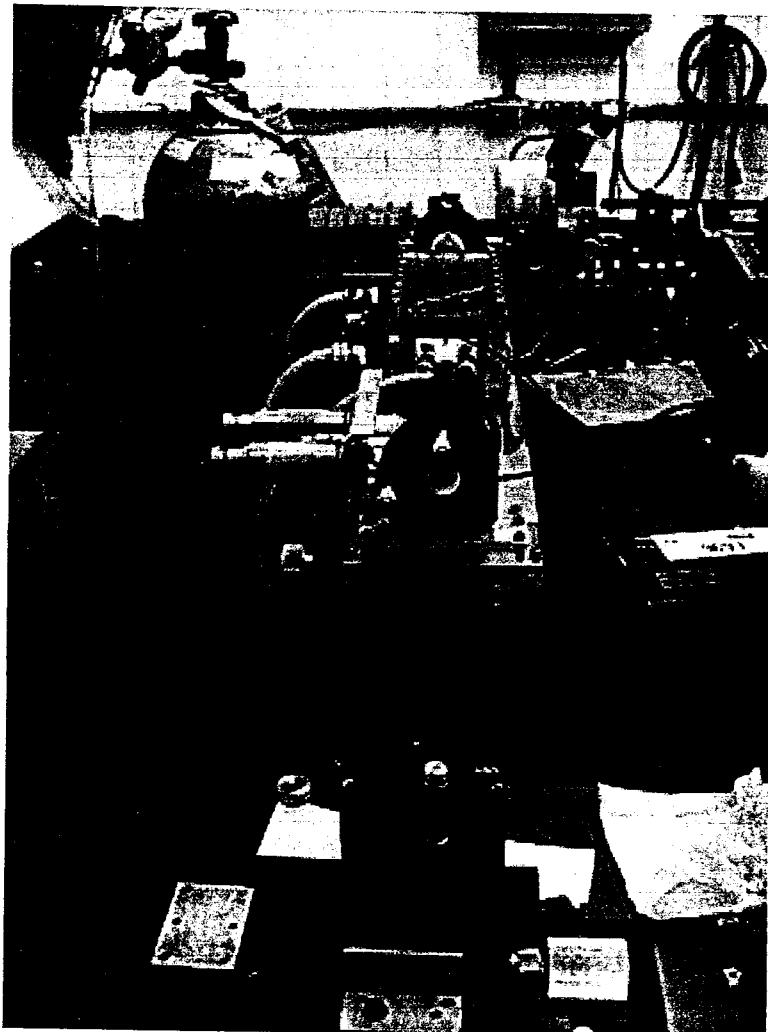


Figura 5 – Laser de Er:Tm:Ho:LiYF<sub>4</sub> com emissão em 2,065μm

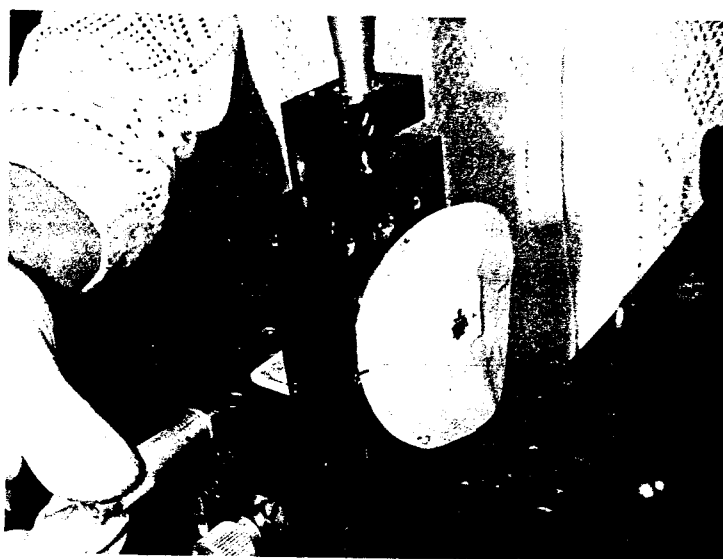
## 5.4 Irradiação das Amostras

Os parâmetros de irradiação foram: Grupo II – 120mJ de energia, taxa de repetição de 0,5Hz e lente com distância focal de 75mm correspondendo a uma densidade de energia de  $100\text{J}/\text{cm}^2$ ; Grupo III – 420mJ de energia, taxa de repetição de 0,5Hz e lente com distância focal de 75mm correspondendo a uma densidade de energia de  $350\text{J}/\text{cm}^2$ ; e Grupo IV – 150mJ de energia, taxa de repetição de 0,5Hz e lente com distância focal de 50mm correspondendo a uma densidade de energia de  $450\text{J}/\text{cm}^2$  (Tabela 2). O grupo I foi mantido como controle.

Tabela 2 – Condições de Irradiação das Amostras

120mJ	75mm	$100\text{J}/\text{cm}^2$	0,5 Hz	0,4 mm
450mJ	75mm	$350\text{J}/\text{cm}^2$	0,5 Hz	0,4 mm
150mJ	50mm	$450\text{J}/\text{cm}^2$	0,5 Hz	0,2 mm

A irradiação foi realizada com o feixe de laser pulsado incidindo perpendicularmente à superfície do esmalte a ser irradiada, varrendo toda a superfície de forma pontual bem como percorrendo toda a área delimitada por duas vezes. Esta varredura da superfície de forma pontual e precisa foi possível com o auxílio de um motor de passo que manualmente deslocava a amostra, permitindo que esta fosse irradiada micrometricamente em toda a sua extensão (Figura 6).



*Figura 6– Irradiação da superfície de esmalte bovino com laser de Ho:YLF*

O laser de Ho:YLF emite em um comprimento de onda de 2065nm, próximo a um dos picos de absorção da água e apresenta pequena afinidade com a hidroxiapatita. Por essa razão, previamente à irradiação da superfície delimitada, aplicamos um pigmento iniciador (nanquim), com o intuito de aumentar a absorção deste comprimento de onda pela estrutura dentária, levando a uma maior eficiência do laser.

Análises por meio de microscopia eletrônica de varredura de grupos piloto mostraram que o grupo no qual havia sido utilizado o foto iniciador propiciou superfícies de esmalte fundida de forma mais homogênea.

## 5.5 Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Comprimento de Onda

A Fluorescência de Raios-X por dispersão de comprimento de onda é um método efetivo para a análise espectroquímica de amostras biológicas, podendo alcançar até 50 $\mu$ m de profundidade e manter uma boa sensibilidade (Figura 7).

Este método causa danos insignificantes às amostras, como radioatividade ionizante ou aquecimento excessivo. O feixe de raio-x possui uma polarização bem definida e alto grau de colimação. A técnica de Fluorescência de Raios-X foi concebida a cerca de 70 anos e passou por diversas modificações. Os princípios de funcionamento dos aparelhos mais modernos são o seguinte: a amostra é adaptada a um porta-amostra e inserida dentro do aparelho de fluorescência e assim irradiada com raios-X. Com isso os elétrons da camada mais interna da amostra são arrancados, e os elétrons do orbital externo decaem para esta camada. Este decaimento para um orbital menos energético libera fótons. Esta energia de fóton é característica para cada elemento constituinte da amostra, o que propicia sua identificação e quantificação.

A Fluorescência de Raios-X, por não produzir dano à amostra a ser tratada, permite que esta possa também ser usada como controle, obtendo-se análises antes e depois da irradiação laser.

O aparelho utilizado neste experimento foi o Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X por dispersão de comprimento de onda RIX 3000, Rigaku, 1996, Osaka, Japão, do Centro de Química Ambiental do IPEN (Figura7).

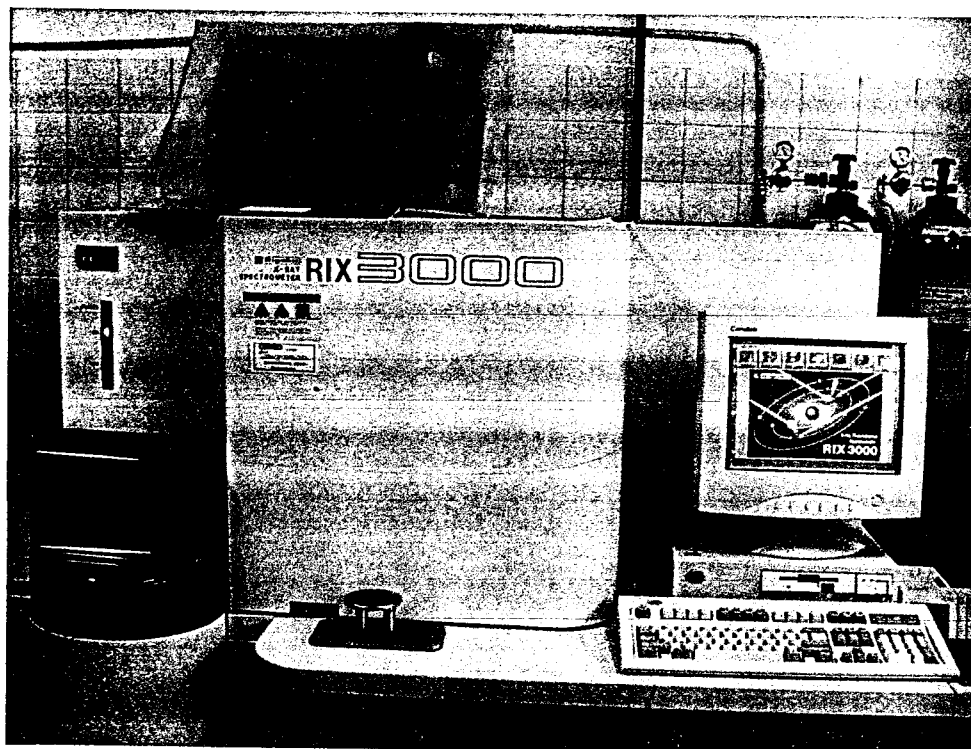


Figura 7 - Aparelho de fluorescência de Raios-X RIX 3000, Rigaku 1996

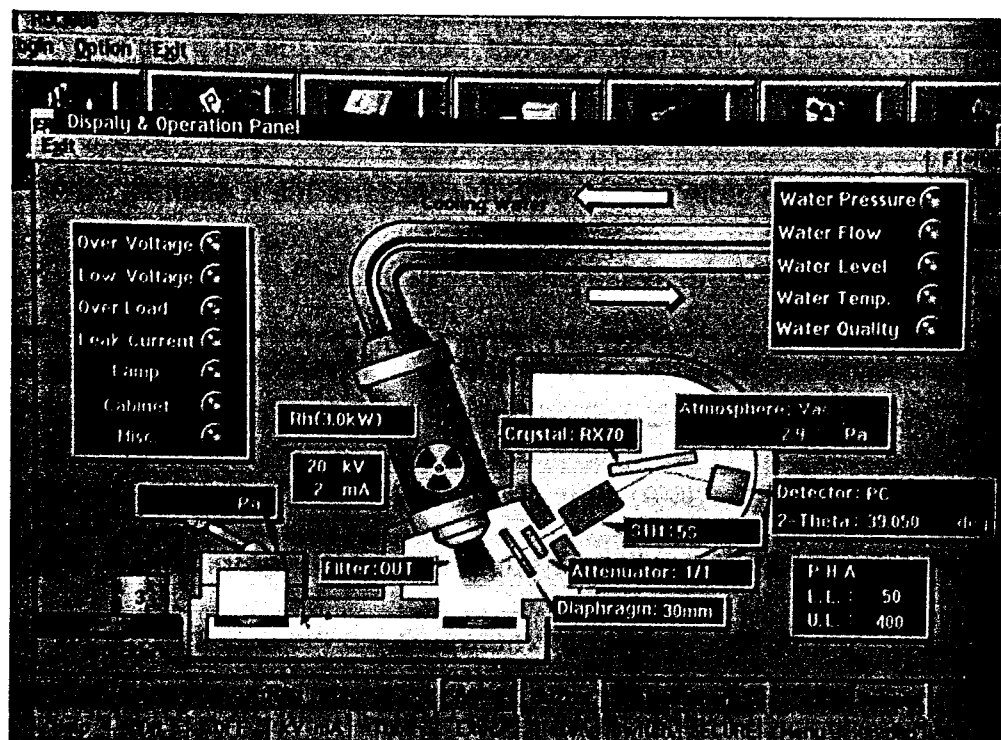
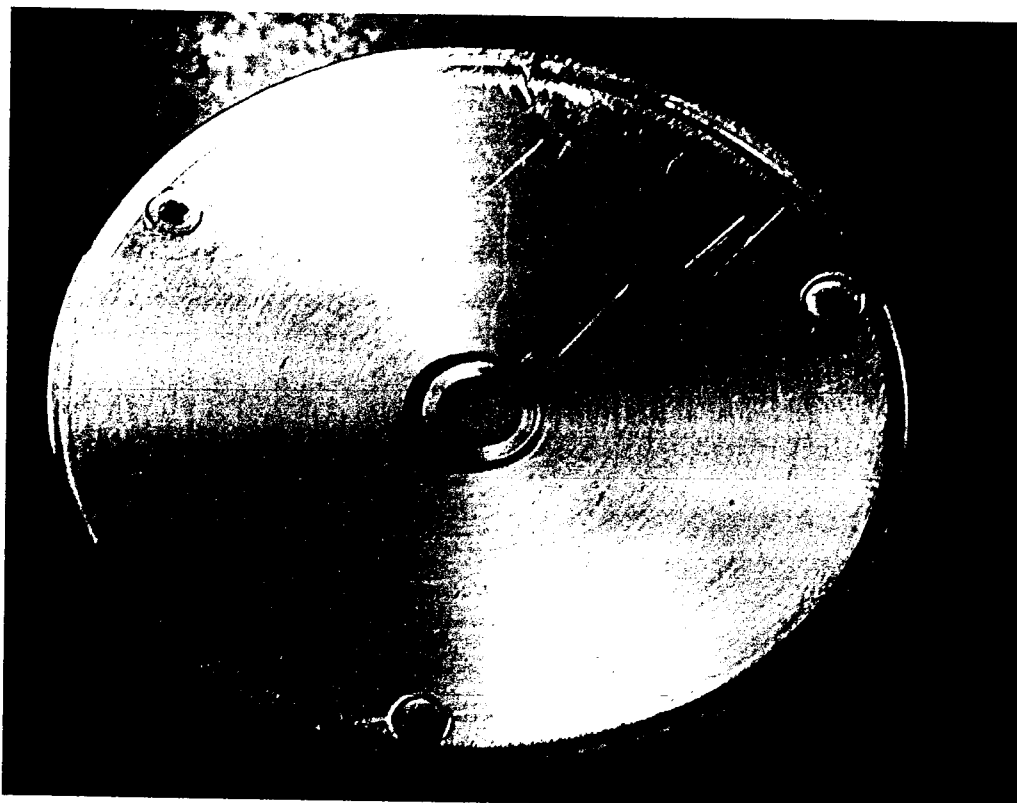


Figura 8 - Detalhe da tela do programa de operação do aparelho de fluorescência de raios -X



*Figura 9* - Porta-amostra utilizado na técnica de Fluorescência de Raios-X

As amostras foram acopladas em bases metálicas específicas para ser realizada a análise na qual o orifício contido nesta base mostrava somente a superfície de esmalte a ser analisada. Como foram feitas medições antes e após o experimento, para que estas amostras mantivessem a mesma posição durante a análise, elas foram cuidadosamente marcadas, para que pudessem ser recolocadas na mesma posição (Figura 9). Em cada amostra foram realizadas três medições com o objetivo de termos uma maior precisão dos resultados. Todas as amostras foram analisadas e quantificadas em relação aos elementos cálcio e fósforo, antes e depois do tratamento. As amostras analisadas antes do tratamento foram consideradas como seu próprio controle.

## 5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram observados os aspectos estruturais e as alterações morfológicas decorrentes da irradiação do laser de hólmio em esmalte dental com o microscópio eletrônico de varredura da marca Philips XL, Série 30, Eindhoven, Holanda, do Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais – IPEN.

As amostras utilizadas para a microscopia eletrônica foram as que já haviam sido utilizadas na fluorescência de raios-x; como comentado anteriormente essa técnica não produz dano à amostra. Elas foram apenas limpas e desidratadas previamente à microscopia, em uma série de concentrações crescentes de álcool, (50%, 70%, 90% e 100%), por uma hora em cada concentração. Neste experimento não utilizamos o ultra-som para que não ocorressem trincas no esmalte decorrentes da limpeza e desidratação. Após a desidratação, as amostras foram fixadas em suportes metálicos com cola prata condutora, e sobre a superfície a ser analisada, depositado um filme fino de ouro, com o aparelho Sputter Coater SCD-050 (Bal-Tec, Liechtenstein). As amostras foram mantidas em desumidificador até o momento da análise.

## 5.7 Sistema de Monitoração da Temperatura

As amostras selecionadas para este experimento foram dez dentes pré-molares humanos, em que foram removidas as polpas coronárias e radicular e realizada a instrumentação do canal, sendo o acesso realizado por intermédio da porção apical. Optou-se pela utilização de dentes humanos para que este experimento indicasse resultados os mais próximos possíveis do que ocorreria na cavidade bucal humana, tornando-o um indicativo para a possível utilização do laser de hólmio em pesquisas *in vivo*. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IPEN (Anexo 1).

A aquisição de temperatura foi realizada por um sistema composto por um termopar tipo T constituído pela liga de cobre-constantan com diâmetro de 130 $\mu$ m (Omega Engineering, Inc.; Stanford, CA -EUA). Este foi introduzido no canal instrumentado via região apical e levado até o teto da câmara pulpar. Radiografias foram realizadas com o objetivo de visualizar a posição destes termopares. Utilizou-se também pasta térmica entre a superfície do dente e o termopar para produzir um maior contato e condução térmica entre a dentina e a ponta do termopar.

Após a correta colocação do termopar dentro dos canais radiculares, as amostras tiveram seu fechamento com resina composta fotopolimerizável (Herculite - Kerr).

O aparato experimental utilizado está apresentado nas Figuras 9 e 10. A porção radicular dos espécimes foi mantida durante a irradiação em um banho térmico entre 36° C e 37° C para simular as condições corpóreas.

Para o registro da temperatura foi utilizado um sistema composto por um amplificador *lock-in* (5RS10, Stanford Research System -EUA) e um software apropriado para amplificar a variação na voltagem dos termopares e transformá-la portanto em temperatura. A comunicação com um PC permitiu a análise dos dados em tempo real no programa gráfico Origin (Figuras 10 e 11)

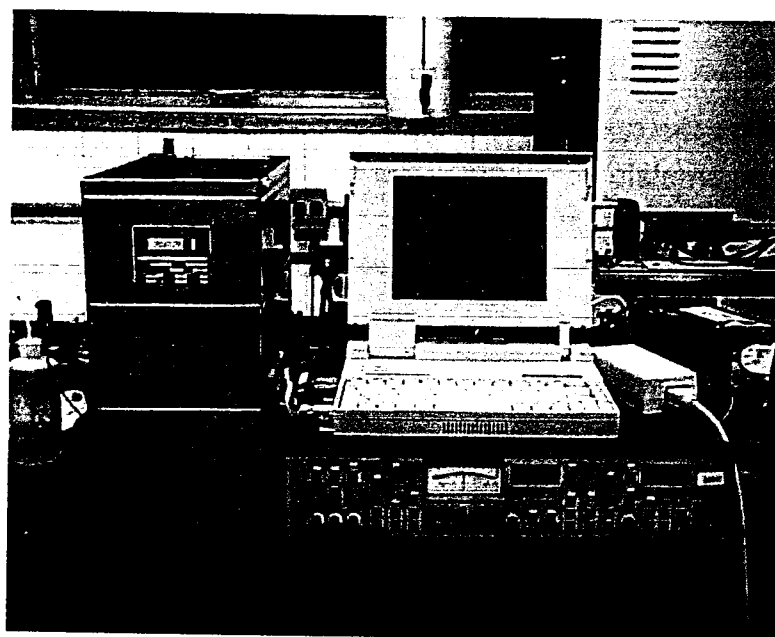
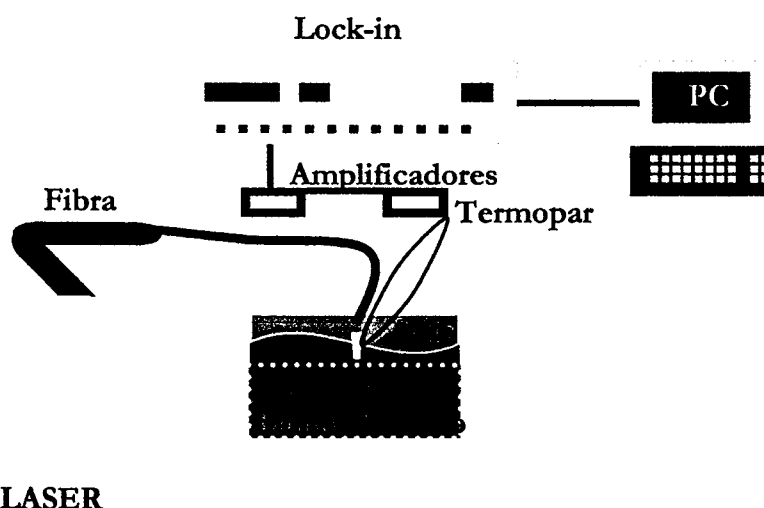


Figura 10 – Foto do sistema para monitoração de temperatura



*Figura 11* – Diagrama esquemático do sistema para monitoração de temperatura

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Espectrometria de Fluorescência de Raios-X

Foi realizada uma análise de Espectrometria de Fluorescência de Raios-X para que fossem semi-quantificados os elementos cálcio e fósforo presentes nas amostras.

O objetivo deste estudo é comparar a razão de átomos de cálcio por átomos de fósforo (Ca/P) das amostras antes e após a irradiação com o laser de hólmio.

Para tal foram utilizadas 20 amostras, as quais foram separadas em quatro grupos com cinco amostras cada, conforme a Tabela 2 do capítulo "Materiais e Métodos".

Procederemos à avaliação quanto a haver ou não diferença na razão Ca/P entre os grupos e entre os momentos anterior e posterior à irradiação com o laser de hólmio. A razão será analisada primeiramente de forma descritiva, por meio de tabelas e gráficos e, em seguida, será verificado se as diferenças observadas são significativas ou não (análise inferencial).

### 6.1.1 Análise descritiva

Na Tabela 3 são apresentados os valores médios e os desvios padrão para a razão Ca/P, os quais também são apresentados nas Figuras 12, 13 e 14.

Pode ser observado que:

- os três grupos irradiados pelo laser (Grupos II, III e IV), apresentaram uma grande variação entre os valores de Ca/P no momento anterior e posterior à irradiação. O grupo-controle (Grupo I) não demonstrou variação expressiva;
- no momento anterior à irradiação os quatro grupos apresentaram valores de Ca/P semelhantes e no posterior à irradiação, os três grupos irradiados também apresentaram valores de Ca/P semelhantes (e maiores que o controle);
- a variabilidade das amostras dentro de cada grupo/tempo não foi muito diferente. Somente os grupos  $100\text{J}/\text{cm}^2$  e  $450\text{J}/\text{cm}^2$  apresentaram uma variabilidade maior antes da irradiação.

Tabela 3 – Médias e Desvios Padrão (entre parênteses) para a Razão Ca/P

Grupo	Anterior	Posterior
100J/cm <sup>2</sup>	2,073 (0,053)	2,217 (0,022)
350J/cm <sup>2</sup>	2,045 (0,027)	2,235 (0,017)
450J/cm <sup>2</sup>	2,034 (0,047)	2,250 (0,023)
Controle	2,076 (0,017)	2,116 (0,018)
Total	2,057 (0,040)	2,204 (0,057)

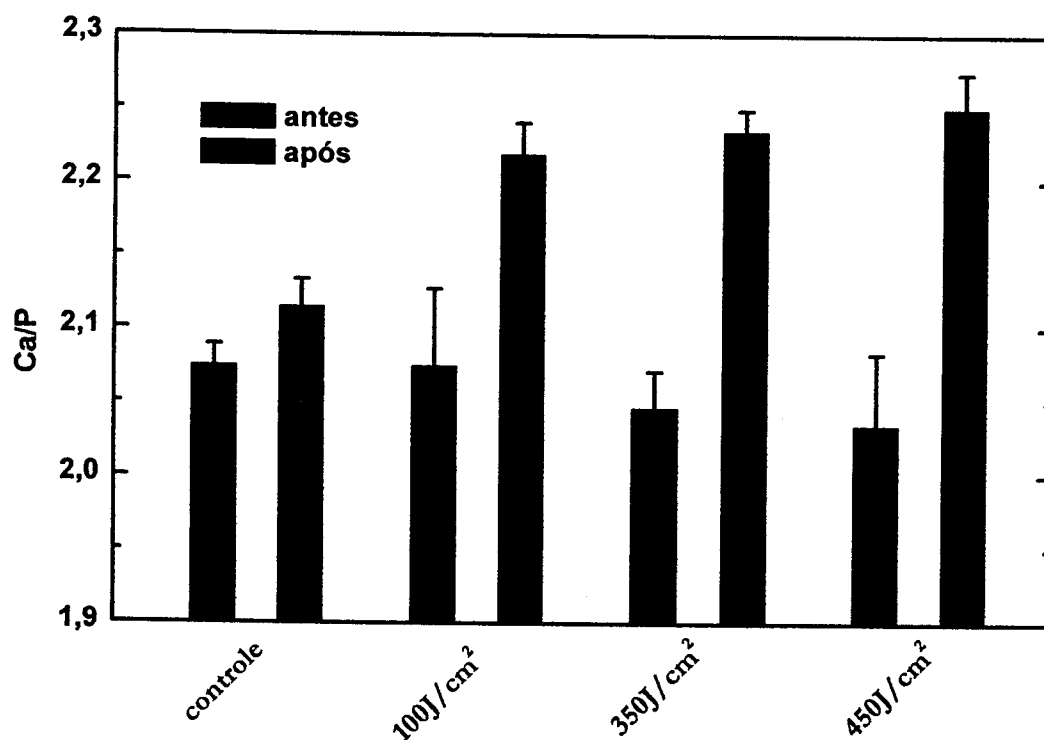


Figura 12 – Resultados da Espectrometria de Fluorescência de Raios-X em relação à razão cálcio e fósforo antes e após a irradiação das amostras de esmalte bovino com o laser de hólmio

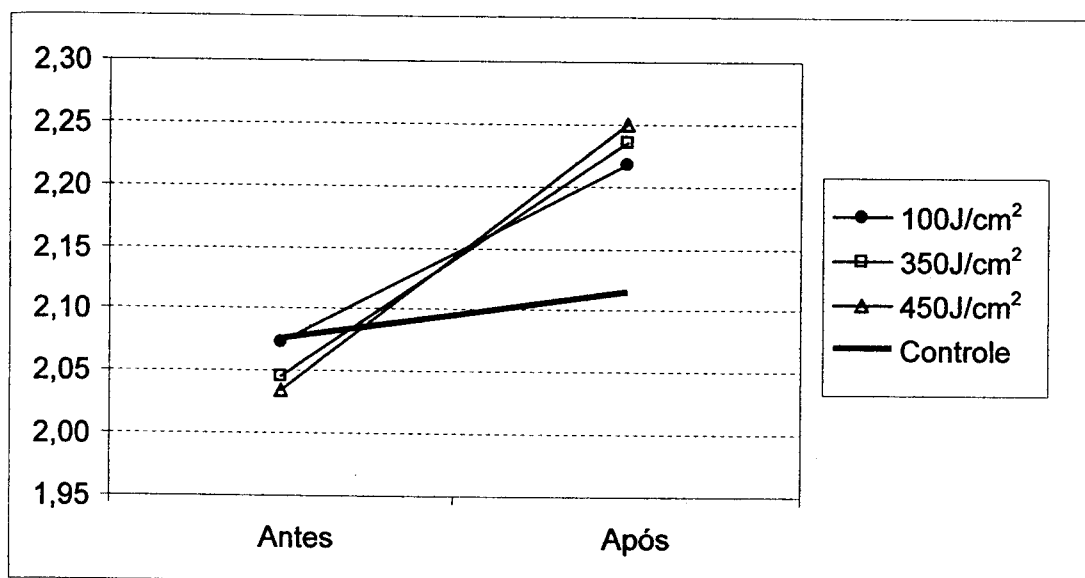


Figura 13 - Médias para a razão de átomos de Ca/P, antes e após a irradiação com o laser de hólmio

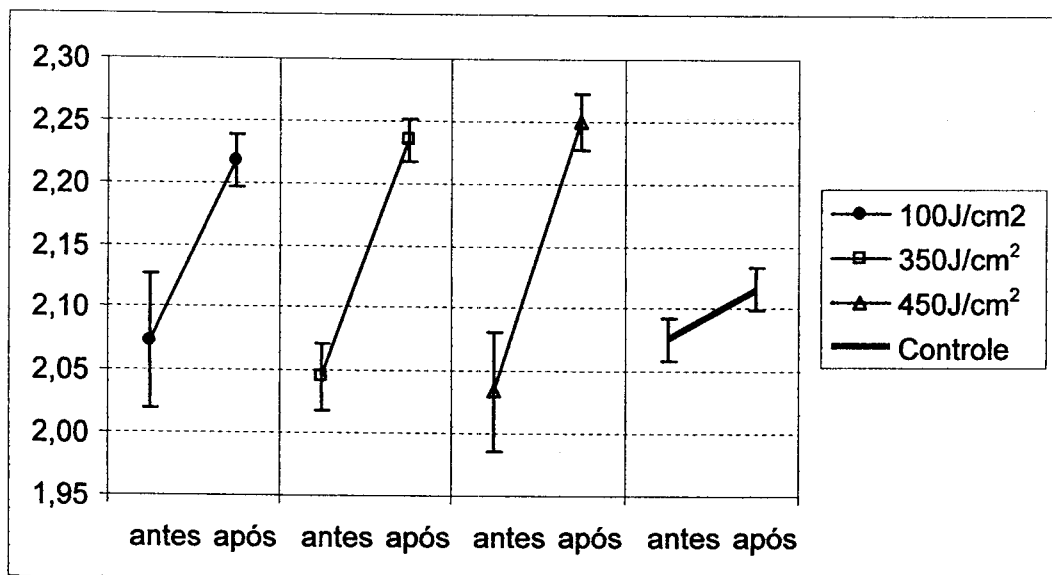


Figura 14 - Médias e desvio padrão para a razão de átomos de Ca/P

### 6.1.2 Análise inferencial

Para analisar se as diferenças entre os grupos e entre os tempos (anterior e posterior à irradiação) são significativas, será utilizada a técnica da *Análise de Variância para Medidas Repetidas*, a qual leva em consideração que cada amostra foi observada mais de uma vez (no momento anterior e no posterior).

Para utilizar a técnica de forma válida será preciso verificar duas hipóteses: a normalidade dos resíduos da análise e a homogeneidade entre as variâncias dos grupos. Serão verificadas essas hipóteses respectivamente mediante *Teste de Anderson-Darling* e do *Teste de Levene*.

Para a verificação das hipóteses da técnica, foi testada a homogeneidade das variâncias para os grupos e tempos pelo *Teste de Levene* e obtido um nível descritivo<sup>1\*</sup> de 0,415, de onde se conclui que as variâncias são homogêneas.

Para testar a normalidade dos resíduos foi utilizado o *Teste de Anderson-Darling* e obtido um nível descritivo de 0,243, pelo qual não se rejeita a hipótese de normalidade, possibilitando dessa forma a utilização da técnica.

Para verificar se as diferenças entre as médias dos grupos vistas na parte descritiva são significativas ou não, foi feita a *Análise de Variância* (Tabela 3.1), segundo a qual é possível concluir, pelo nível descritivo, que existe uma interação entre o grupo e o tempo, ou seja, a variação do tempo anterior e do posterior à

---

\*<sup>1</sup> O nível descritivo de um teste é a probabilidade de estarmos cometendo um erro ao rejeitamos a hipótese sendo que esta é verdadeira. Na maioria dos testes a hipótese testada é a hipótese de igualdade, no caso acima, a hipótese é que as variâncias dos grupos sejam todas iguais.

irradiação laser não é a mesma para todos os grupos (isto deve-se provavelmente ao grupo Controle).

Para estudar melhor as diferenças em relação aos grupos e tempos, foram feitas *Comparações Múltiplas para as médias* por meio do *método de Tukey*, pelas quais foi possível comparar cada uma das médias obtidas. Na Tabela 3.2 são apresentadas as comparações gerais, e nas Tabelas 3.3 e 3.4 são apresentados os mesmos dados da Tabela 3.2 com os testes comparando os grupos somente para o momento anterior e para o posterior à irradiação laser.<sup>90,91,92</sup>

Por intermédio das comparações conclui-se que:

- os três grupos irradiados pelo laser (Grupo II, III e IV) apresentaram diferenças significativas entre o tempo anterior e o posterior a irradiação. O grupo-controle (Grupo I) não apresentou diferença estatisticamente significativa, sendo esta análise global confiante em no mínimo 95%;
- no momento anterior à irradiação, os quatro grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si;
- no momento posterior à irradiação, os três grupos irradiados pelo laser (Grupo II, III e IV) não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, mas todos foram diferentes estatística e significativamente em um nível de 0,01% do grupo-controle (Grupo I).

Tabela 3.1 – Tabela da Análise de Variância para a razão Ca/P

Fonte de variação	de	Graus de liberdade	Soma de quadrados	de Quadrados médios	Estatística F	Nível descritivo
Grupo	3		0,016458	0,005486	4,91	0,013
Amostra(Grupo)	16		0,017882	0,001118	1,42	0,247
Tempo	1		0,217467	0,217467	275,45	0,000
Grupo * Tempo	3		0,044949	0,014983	18,98	0,000
Resíduo	16		0,012632	0,000789		
Total	39		0,309388			

Tabela 3.2 - Comparações múltiplas pelo método de Tukey para a razão Ca/P (as diferenças significativas estão hachuradas)

Grupo	Tempo	100 J/cm <sup>2</sup>		350 J/cm <sup>2</sup>		450 J/cm <sup>2</sup>		Controle	
		antes	após	antes	após	antes	após	antes	após
100 J/cm <sup>2</sup>	antes		0,0002	0,7685	0,0002	0,3956	0,0002	1,0000	0,3015
	após	0,0002		0,0002	0,9737	0,0002	0,6126	0,0002	0,0008
350 J/cm <sup>2</sup>	antes	0,7685	0,0002		0,0002	0,9972	0,0002	0,6868	0,0194
	após	0,0002	0,9737	0,0002		0,0002	0,9855	0,0002	0,0003
450 J/cm <sup>2</sup>	antes	0,3956	0,0002	0,9972	0,0002		0,0002	0,3241	0,0055
	após	0,0002	0,6126	0,0002	0,9855	0,0002		0,0002	0,0002
Controle	antes	1,0000	0,0002	0,6868	0,0002	0,3241	0,0002		0,3700
	após	0,3015	0,0008	0,0194	0,0003	0,0055	0,0002	0,3700	

**Tabela 3.3 - Comparações múltiplas pelo método de Tukey para a razão Ca/P no momento anterior (as diferenças significativas estão hachuradas)**

Grupo	100 J/cm <sup>2</sup>	350 J/cm <sup>2</sup>	450 J/cm <sup>2</sup>	Controle
100 J/cm <sup>2</sup>		0,7685	0,3956	1,0000
350 J/cm <sup>2</sup>	0,7685		0,9972	0,6868
450 J/cm <sup>2</sup>	0,3956	0,9972		0,3241
Controle	1,0000	0,6868	0,3241	

**Tabela 3.4 - Comparações múltiplas pelo método de Tukey para a razão Ca/P no momento posterior (as diferenças significativas estão hachuradas)**

Grupo	100 J/cm <sup>2</sup>	350 J/cm <sup>2</sup>	450 J/cm <sup>2</sup>	Controle
100 J/cm <sup>2</sup>		0,9737	0,6126	0,0008
350 J/cm <sup>2</sup>	0,9737		0,9855	0,0003
450 J/cm <sup>2</sup>	0,6126	0,9855		0,0002
Controle	0,0008	0,0003	0,0002	

## 6.2 Monitoração da Temperatura na Câmara Pulpar

Durante a monitoração *in vitro* da temperatura intra-pulpar em amostras dentais irradiadas com laser de Ho:YLF, realizada com termopar, a máxima elevação da temperatura obtida foi de  $3,8^{\circ}\text{C}$  para a densidade de energia de  $350\text{J}/\text{cm}^2$ , e de  $4,2^{\circ}\text{C}$  para a densidade de energia de  $450\text{J}/\text{cm}^2$ , conforme observa-se nas Figuras 15 e 16.

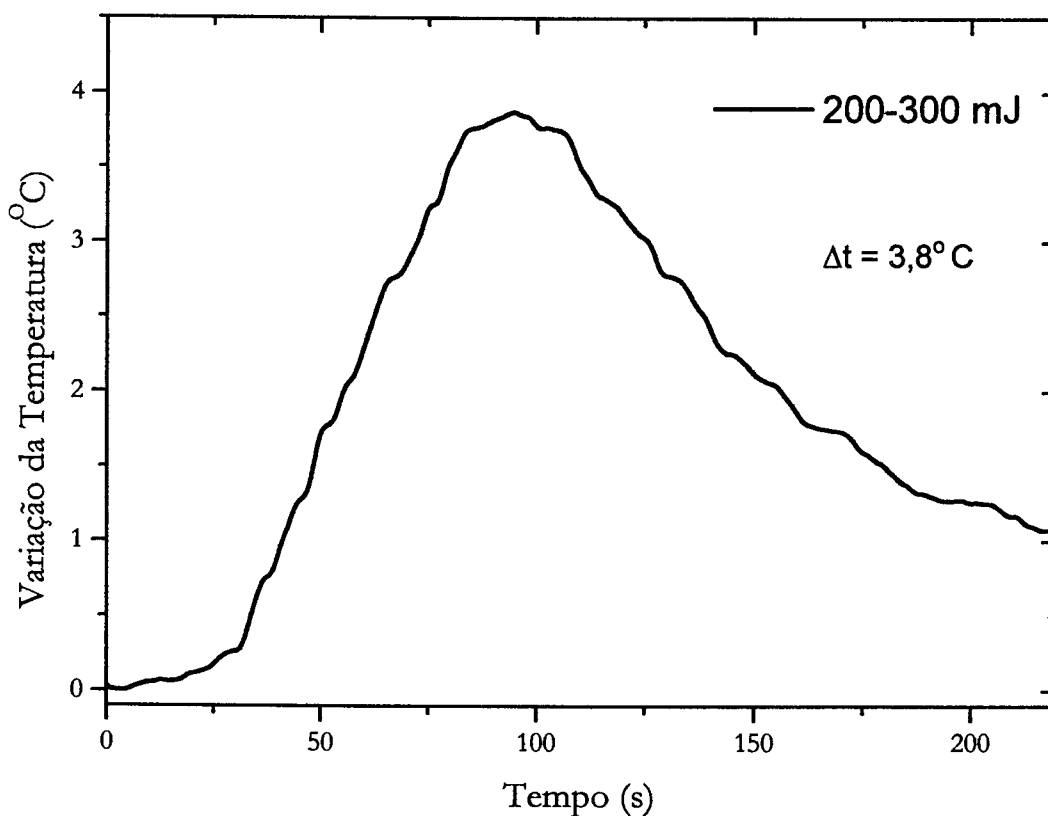


Figura 15 - Variação da temperatura no esmalte irradiado com densidade de energia de  $350\text{J}/\text{cm}^2$  e  $0,5\text{Hz}$

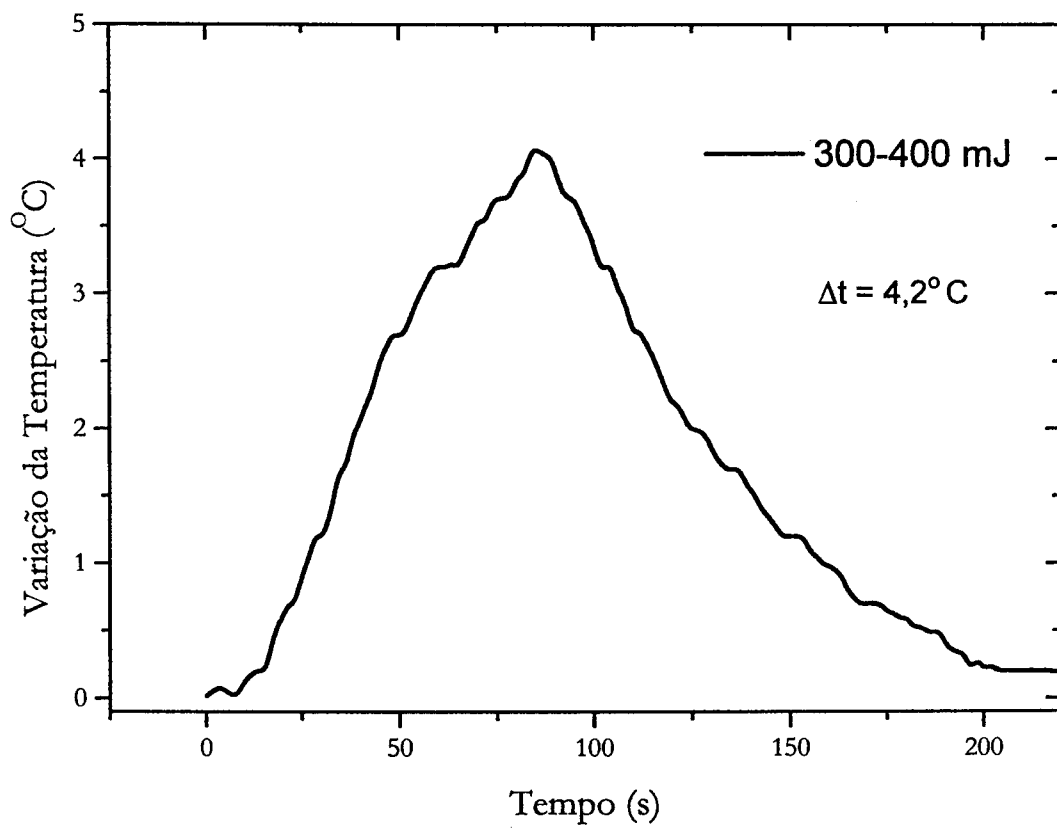


Figura 16 - Variação da temperatura no esmalte irradiado com densidade de energia de  $450\text{J}/\text{cm}^2$  e  $0,5\text{Hz}$

### 6.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na Figura 17, a qual apresenta a superfície de esmalte dental bovino tratado com flúor fosfato acidulado (APF) e ácido láctico (Grupo I – grande aumento), sugere-se que a superfície com aspecto de cristalitos possa ser um produto resultante do tratamento ácido.

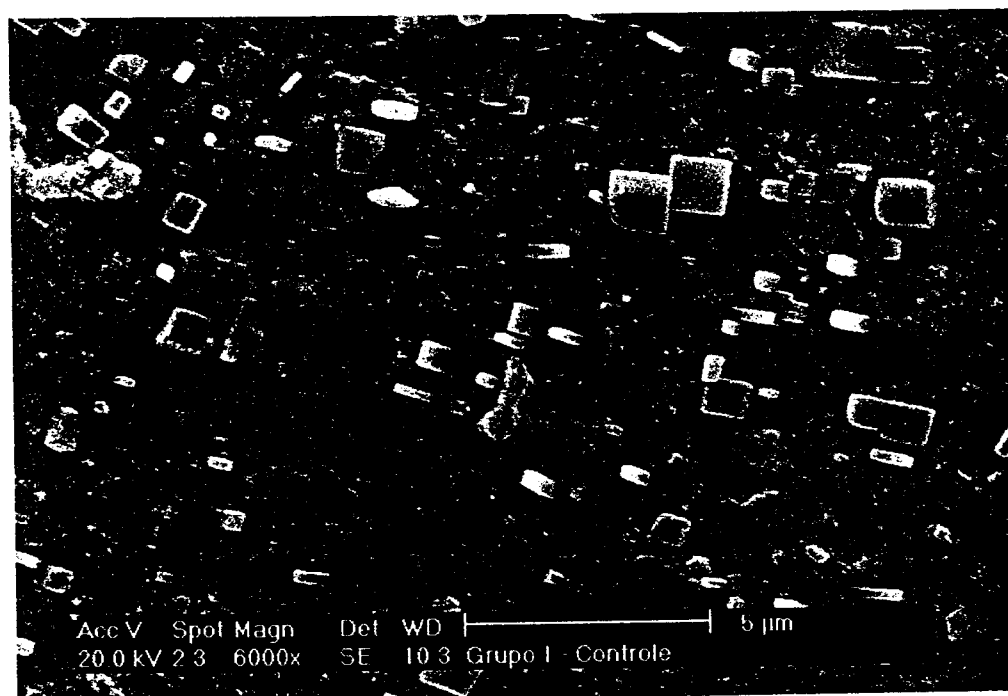


Figura 17 – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino tratado com APF + ácido láctico

Na Figura 18 observa-se que a superfície do esmalte tratada com flúor e ácido mostra-se com aspectos diferentes da superfície do esmalte não tratado (grupo-controle antes dos tratamentos).

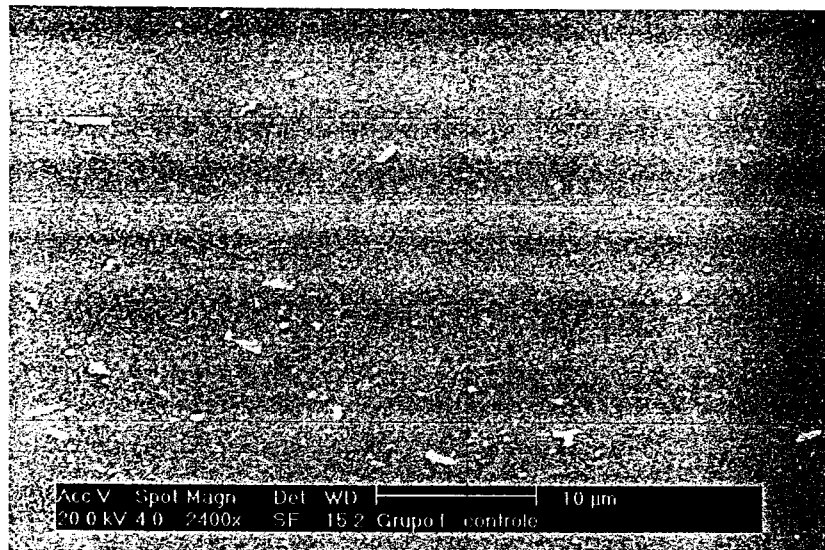


Figura 18 – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino sem tratamento

A Figura 19 mostra em maior aumento uma superfície de esmalte irradiado com o laser de hólmio ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ), em que se identifica mudanças morfológicas com áreas de fusão e ressolidificação do esmalte.

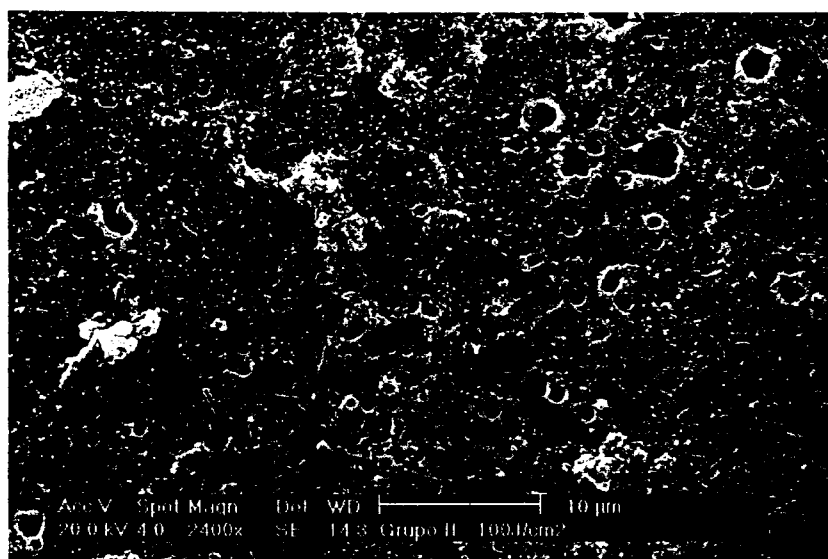
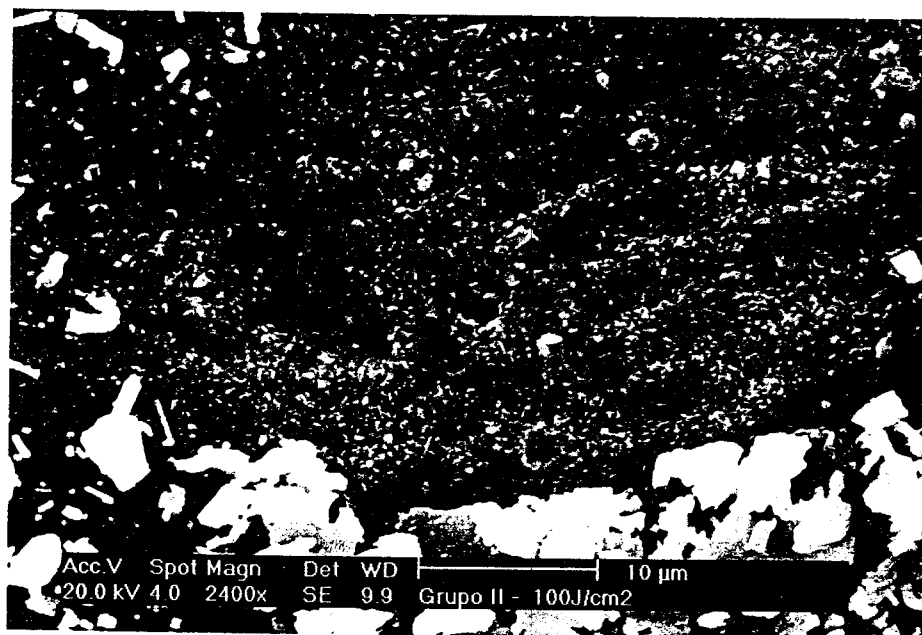


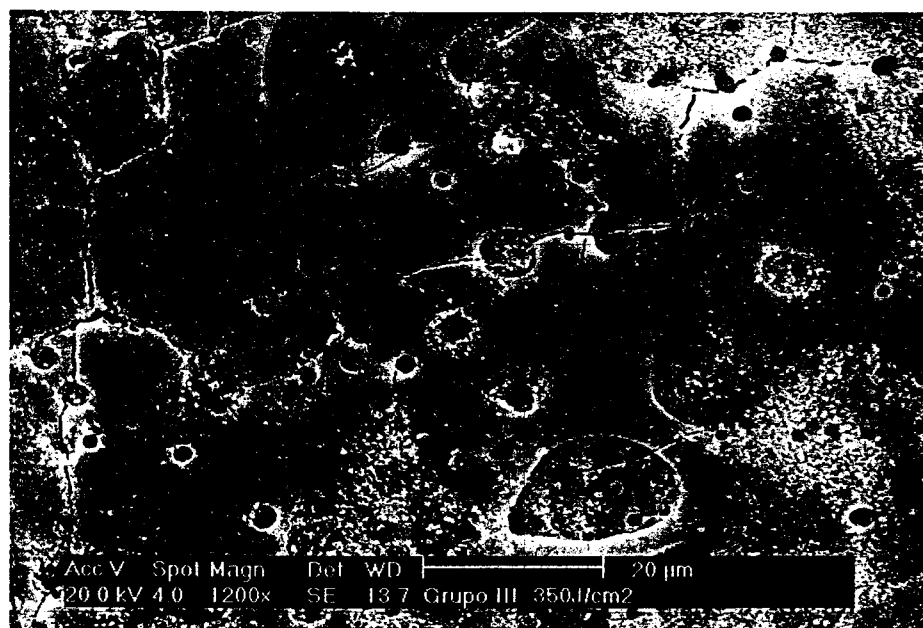
Figura 19 – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) (maior aumento)

Já na Figura 20, a qual apresenta a superfície de esmalte irradiada com o laser de hólmio ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) e tratada posteriormente com APF e ácido láctico, observa-se uma perda do padrão de fusão e o aparecimento de resíduos do material removido pelo tratamento ácido.



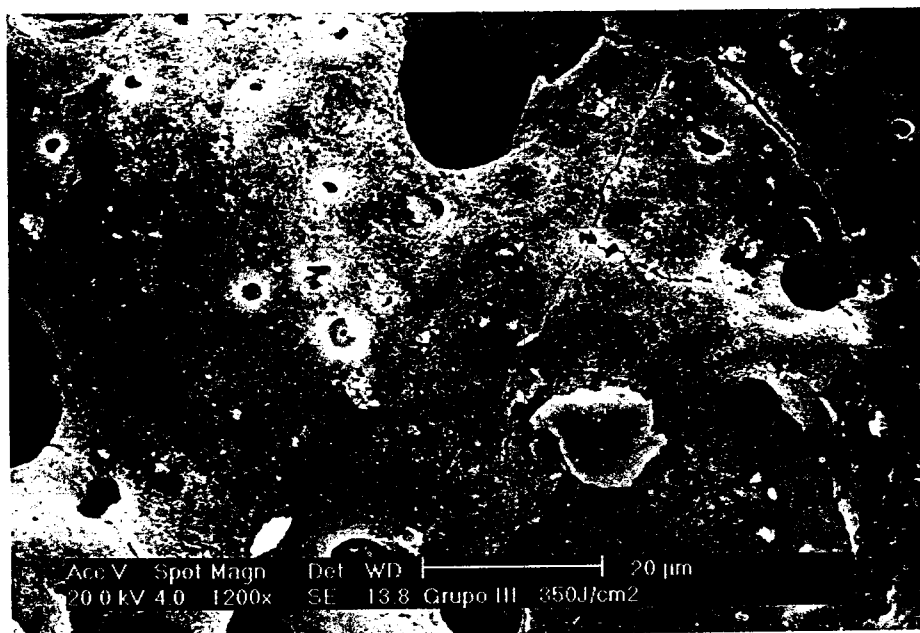
*Figura 20* – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) + APF e ácido láctico (maior aumento)

Na Figura 21, a superfície onde o laser de hólmio ( $350\text{J}/\text{cm}^2$ ) foi incidido, identifica-se uma superfície glazeada, fusionada com a presença de crateras de tamanhos diferentes e áreas ressolidificadas. Observa-se também uma superfície irregular apesar do aspecto vitrificado, mostrando nitidamente a característica de um esmalte fundido pelo laser de hólmio.



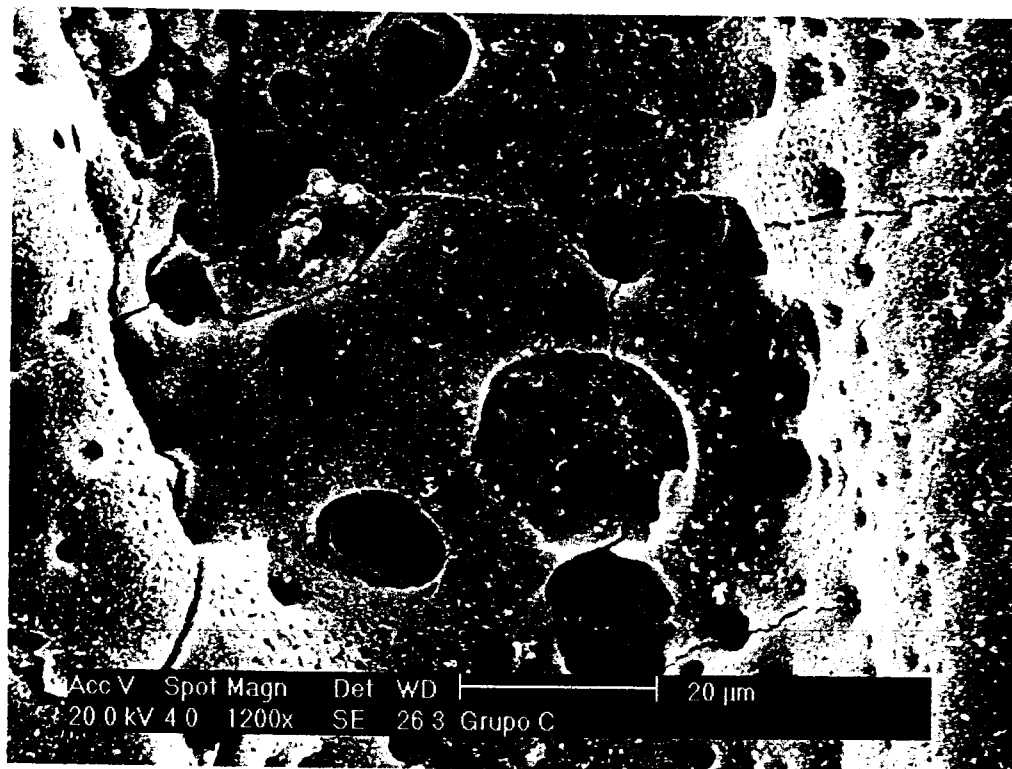
*Figura 21* – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio ( $350\text{J}/\text{cm}^2$ )

Nas amostras do Grupo III, irradiadas com laser de hólmio ( $350\text{J}/\text{cm}^2$ ) e posteriormente tratadas com APF e ácido láctico (Figura 22), identifica-se um aspecto padrão de fusão, sugerindo-se que nestas condições o tratamento com o ácido não foi suficiente para remover toda a superfície de esmalte fundida. Observamos nesta figura, trincas no esmalte provocadas pelo artefato da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura, possivelmente devido ao auto-vácuo e a desidratação prévia das amostras.



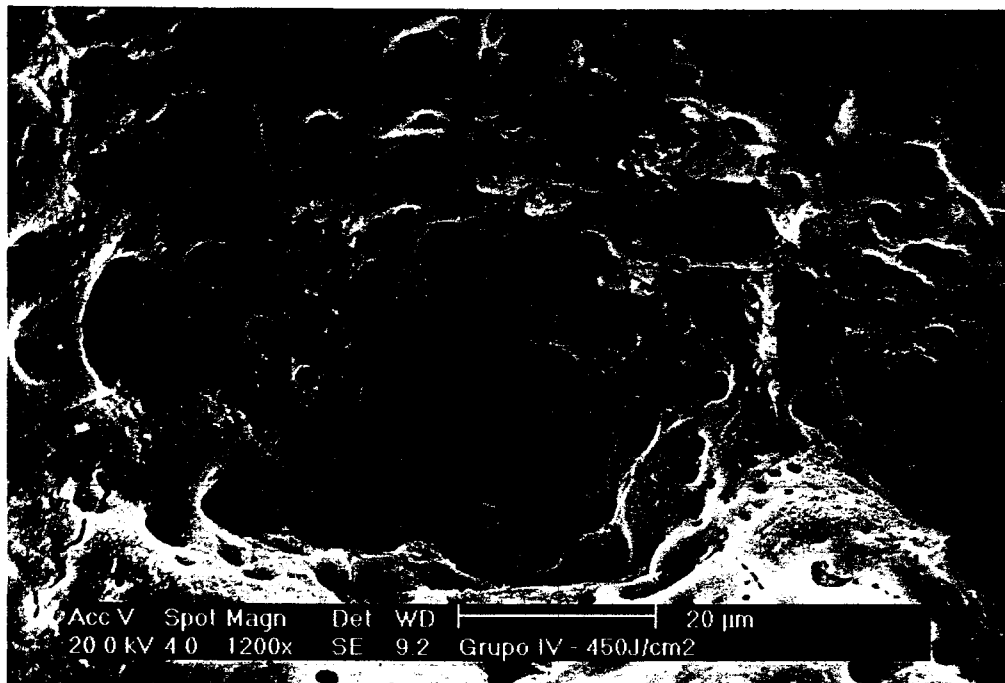
*Figura 22* –Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio ( $350\text{J}/\text{cm}^2$ )+ APF + ácido láctico (maior aumento)

Conforme se observa na Figura 23, fica também evidenciada uma superfície de esmalte fusionada com a presença de crateras de diversos tamanhos.



*Figura 23* – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio ( $450\text{J}/\text{cm}^2$ )

Na Figura 24 observa-se que apesar de se tratar a superfície irradiada com ácido láctico esta não demonstra nenhum padrão de desmineralização.



*Figura 24 – Micrografia eletrônica de esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio ( $450\text{J}/\text{cm}^2$ ) + APF + ácido láctico*

A análise de microscopia de varredura sugere que as amostras, nas quais as superfícies do esmalte bovino foram irradiadas com densidades de energia maiores ( $350\text{--}450\text{J}/\text{cm}^2$ ), não sofreram desmineralização provocada pelo tratamento ácido, diferindo-se das amostras nas quais a superfície do esmalte foi irradiada com menor densidade de energia ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) bem como a não irradiada (controle), os quais demonstraram uma desmineralização causada pelo tratamento ácido. Este fato pode ter ocorrido em função de as superfícies de esmalte irradiadas por densidades maiores terem mostrado um esmalte com aspecto de fusão mais uniforme e possivelmente uma camada mais espessa

(profunda), tornando este esmalte mais resistente ao tratamento ácido. Esses resultados estão de acordo com os resultados da análise de fluorescência de raios-x em que se verificou que os grupos irradiados com o laser de hólmio e tratados posteriormente com o flúor fosfato acidulado não apresentaram diminuição na razão das concentrações de cálcio e fósforo, demonstrando ser mais resistentes à desmineralização.

## 7 DISCUSSÃO

Os conhecimentos a respeito da prevenção da cárie dental têm se difundido cada vez mais, extrapolando os limites das comunidades científicas e Universidades, chegando hoje com maior facilidade à população.

A "dieta civilizada" altamente calórica composta por carboidratos fermentáveis, com ênfase na sacarose, facilita a ação dos *Streptococcus mutans* que produzem ácidos a partir do substrato presente. Assim, toda vez que o açúcar é ingerido, penetra na placa dental onde é convertido em ácido, provocando uma queda instantânea do pH. Quando os pHs críticos para o esmalte e a dentina são atingidos, estes perderão cálcio (Ca) e fosfato (P), sofrendo desmineralização, fator que pode originar as lesões iniciais da cárie. O pH permanece crítico por um tempo que varia de 20 minutos a horas, e então retorna ao normal. O tempo para haver a reversão do pH depende da forma como o açúcar é ingerido em certo período do dia, sendo também relevante a ação da saliva (Figura 25)<sup>9</sup>.

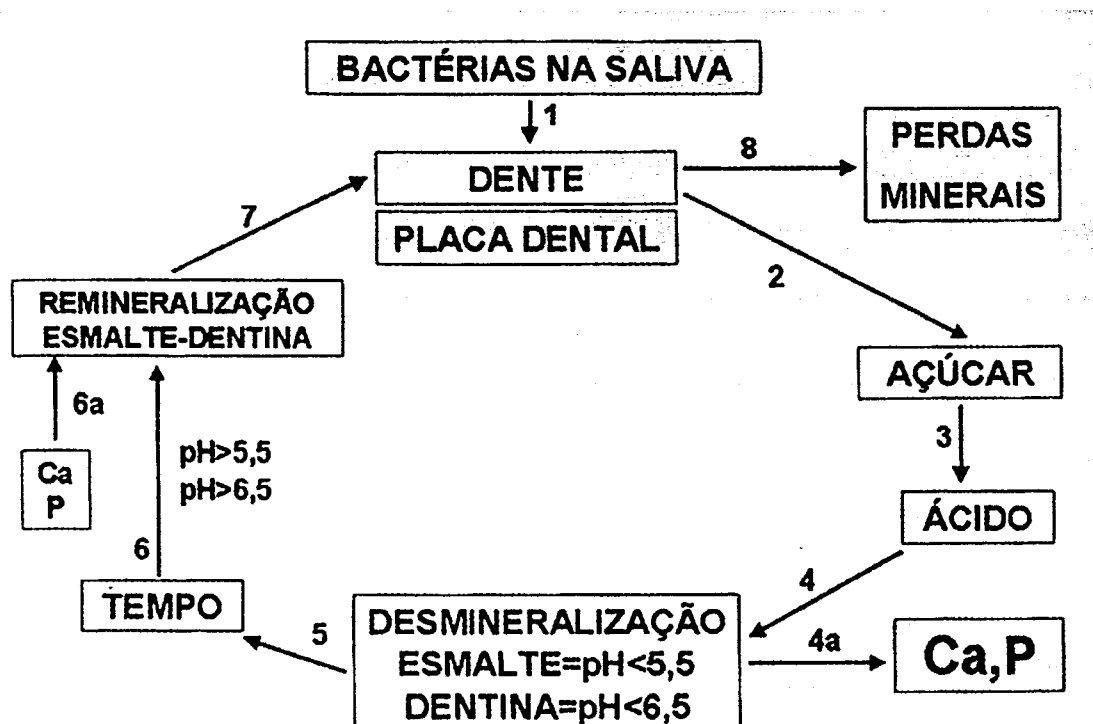


Figura 25 – Dinâmica do desenvolvimento de cárie. Acúmulo de bactérias sobre os dentes (1); ingestão de açúcar (2); produção de ácido (3); quedas de pH (4) com perdas de minerais das estruturas dentais (4a); retorno do pH à normalidade (5) para esmalte-dentina (6); remineralização (6a); repetição do ciclo (7); manifestação da doença cárie (8).

O enfoque moderno de abordagem do problema das cáries dentais não dá ênfase à broca dentária tratando os sintomas, porém aos métodos preventivos que são mais eficientes e realistas para os pacientes. Esses métodos consistem na associação do controle da higienização, no uso de selantes de fissuras, no exame de fluxo salivar, no controle da dieta e em terapias coadjuvantes.

Embora os fluoretos tenham como principal forma de ação documentada e aceita o seu papel no controle compensatório dos ciclos de desremineralização, aumentando localmente a resistência do esmalte contra o desafio cariogênico, ao diminuir a velocidade da perda e estimular os fenômenos de redeposição mineral,

sabe-se que em doses subinibitórias esses compostos podem reduzir a glicólise, diminuindo a produção e o acúmulo de ácidos no biofilme. Estudos utilizando um sistema de cultura contínua mostraram que embora doses inibitórias de fluoretos não produzam efeitos diretos sobre o número de bactérias cariogênicas viáveis na placa em pH neutro, podem evitar a seleção de EGM quando na vigência de condições ácidas no ecossistema, permitindo assim que as espécies acidossensíveis (microbiota "amiga") persistam em níveis mais altos do que na ausência de flúor, garantindo a homeostasia da comunidade microbiana<sup>93</sup>.

As propriedades físicas e químicas do esmalte dental se dão em função da sua composição mineral e seu arranjo estrutural. Os cristais de hidroxiapatita são a base constituinte do esmalte e estão arranjados em estruturas prismáticas densamente empacotadas e perpendiculares à superfície, sendo que essa disposição estrutural concede ao dente considerável resistência mecânica. A pequena quantidade de matéria orgânica (proteínas estruturais, lipídeos e carboidratos) encontradas no espaço interprismático possui um papel importante na plasticidade do esmalte. No entanto, este é também um tecido dinâmico que toma parte no transporte de íons e soluções da saliva tanto quanto no processo de desmineralização e remineralização. Estas propriedades dinâmicas dependem da porosidade tanto quanto das características eletroquímicas do esmalte<sup>94</sup>.

O esmalte é composto por aproximadamente 96% de compostos inorgânicos como a hidroxiapatita –  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  – e tricalciofosfato –  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , e a dentina por aproximadamente 69% destes mesmos compostos. Estes apresentam fortes bandas de absorção na região do infravermelho, devido

ao fosfato, carbonato e aos grupos hidroxila presentes neste cristal<sup>75,95</sup>. Assim, na região do infravermelho, a absorção é o principal responsável pelos efeitos causados nessas estruturas.

Neste trabalho, após a irradiação com o laser de hólmio, modificações na superfície do esmalte são observadas. Iniciado o processo de evaporação da estrutura dentária, começam a ocorrer microexplosões que lançam a distância materiais cristalinos. Dessa forma as estruturas duras do dente são removidas por um processo contínuo de evaporação e mediante microexplosões. Parte do material evaporado se condensa sobre a estrutura dentária, formando uma superfície de aparência vitrificada. Segundo Cecchini<sup>96</sup>, a incidência do laser de Ho:YLF no esmalte dental produz uma superfície vitrificada, a qual pode estar diretamente relacionada à maior resistência desta estrutura à desmineralização em meio ácido.

Estudos da interação laser com o esmalte dental indicam alterações afetando algumas propriedades gerais do esmalte, sendo o aspecto mais relevante de tais interações o aumento da resistência à desmineralização conseguido no esmalte dental irradiado. Demonstrando portanto ser o laser um coadjuvante muito importante na prevenção de cáries<sup>1-3,5,7,8,21,29,34-36,38,39,41-46,48,49,52,53,55-64,66-68,85-87</sup>.

Os primeiros estudos no campo da ação do laser, em aumento da resistência relativa do esmalte dental, datam de 1964, em que pesquisadores mostraram que as superfícies de esmalte irradiadas com laser de rubi tornavam-

se mais acidorresistentes<sup>29</sup>. Em 1965, os mesmos pesquisadores utilizaram o laser de rubi com energia de 12J por pulso e duração de pulso de 500 $\mu$ s. Encontraram uma superfície irradiada com pouca perda mineral, mostrando pouca desmineralização em comparação à superfície não irradiada. Não foi esclarecido se este efeito protetor era puramente físico, deixando o esmalte mais amorfo, ou ainda se havia certas reações químicas no esmalte causadas indiretamente pelo laser<sup>1</sup>.

O primeiro estudo *in vivo* sobre este assunto foi realizado por Stern & Sognaes, em 1972, em que utilizaram o laser de CO<sub>2</sub> superpulsado com densidade de energia de 10 a 15 J/cm<sup>2</sup> em esmalte dental. As amostras foram mantidas em ambiente oral por quatro semanas e analisadas em Microscopia Eletrônica de Varredura, quando se constatou que a superfície de esmalte exposta ao laser permaneceu intacta<sup>29</sup>.

As alterações químicas e morfológicas, ocorridas no esmalte dental após a sua irradiação com alguns tipos de lasers, são responsáveis pelo aumento de sua dureza superficial e pela diminuição do grau de desmineralização na presença de substâncias ácidas, resultando, desse modo, um esmalte mais resistente à ação dos subprodutos ácidos originários da placa bacteriana e, assim, protegendo o dente da doença cárie<sup>7,43</sup>.

A morfologia do esmalte dental é alterada pelo efeito térmico gerado pela absorção da radiação emitida pelo laser, por intermédio do esmalte. Após a irradiação, podem ocorrer fusão e ressolidificação do esmalte.

Morioka et al.<sup>97</sup> comprovaram que os íons flúor penetram mais profundamente quando aplicados sobre o esmalte irradiado com o laser de neodímio do que quando aplicados sobre esmalte não irradiado. O mesmo ocorre com íons cálcio, ocorrendo o inverso com os fosfatos. Os mesmos pesquisadores comprovaram também que o flúor fosfato acidulado é mais efetivo do que o fluoreto de sódio na prevenção de cáries, se aplicado após a irradiação do esmalte com o laser de neodímio. Este fenômeno está de acordo com a pesquisa de Borggreven et al. a qual relatam o aumento da permeabilidade do esmalte bovino após a irradiação com o laser de CO<sub>2</sub><sup>49</sup>.

Oho & Morioka concluíram que pela perda de substâncias interprismáticas e intraprisimáticas do esmalte dental irradiado com laser de neodímio, haveria perda de conteúdo orgânico do esmalte, e que o aumento da birrefringência deste à luz polarizada sugeria a presença de microespaços. Estes poderiam servir de sítios de depósitos para íons de flúor, fosfatos ou cálcio, se o esmalte dental entrasse em contato com esses íons logo após a irradiação laser<sup>37,38</sup>.

Realizaram-se pesquisas com o intuito de obter resultados que comprovassem a diminuição da desmineralização do esmalte, tendo sido descrito que após a fusão e ressolidificação do esmalte irradiado com o laser de neodímio, ocorre um aumento na dimensão dos cristais de hidroxiapatita, sugerindo que este aumento pode ser a principal causa da maior acidorresistência do esmalte dental irradiado<sup>101</sup>.

Morioka et al. tomaram-se de otimismo com o potencial preventivo da associação do laser de neodímio com o flúor fosfato acidulado, relatando que a distribuição de flúor e cálcio é maior no esmalte tratado com laser e flúor fosfato acidulado após a irradiação, ocasionando um decréscimo de fosfato nessas mesmas regiões<sup>36</sup>.

Os efeitos da associação do laser de neodímio e do flúor foram estudados por Tagamori & Morioka, concluindo os autores que a amostra irradiada com laser e depois com flúor fosfato acidulado foi a mais resistente à ação do ácido e com 90% de inibição da dissolução do cálcio<sup>39</sup>.

Cecchini et al. também constataram, *in vitro*, um aumento da acidorresistência do esmalte irradiado com o laser de Nd:YAG<sup>42,44</sup>.

Pelino et al., utilizando amostras irradiadas com laser de Nd:YAG e tratadas em seguida com flúor, comprovaram que estas se tornaram menos vulneráveis à ação dos ácidos produzidos por bactérias do grupo dos *estreptococos mutans*. Essas amostras expostas durante 21 dias a essas bactérias não apresentaram sinais de descalcificação<sup>43,44</sup>.

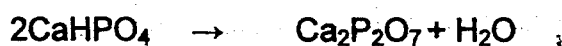
O laser de hólmio também apresenta um grande potencial na área de prevenção, como demonstraram Zezell<sup>2,3,4,5,7,8</sup> e Bonk<sup>7,5</sup>, que comprovaram, *in vitro*, que o esmalte irradiado com o laser de hólmio apresentou como resultado

final maior microdureza superficial e menor perda de cálcio quando expostos a soluções ácidas.

Tais alterações são compatíveis com modificações de compostos como o  $\text{CaHPO}_4$  (hidrogenofosfato de cálcio) e o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  (dihidrogenofosfato de cálcio), cujas proporções de átomos de cálcio e fósforo, respectivamente, são de 1 para 1 e de 1 para 2; para compostos do tipo:  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (fosfato de cálcio) e  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  (pirosfosfato), cujas proporções, respectivamente, são de 3 para 2 e de 1 para 1<sup>96</sup>.

A literatura apresenta os compostos que sofrem modificações segundo as várias faixas de temperatura alcançadas durante o aquecimento do esmalte dental. A partir de 100° C a 650° C, tem-se a perda de água e de carbonato, o arranjo das posições dos íons fosfato e hidroxila. Ocorre também uma modificação de hidrogenofosfato formando o pirofosfato, assim como a decomposição e desnaturação de proteínas. Entre 650 °C e 1100 °C obtém-se a recristalização e o crescimento de cristais de  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , o decréscimo de hidroxilas, a perda de água e carbonato. Acima de 1100 °C, ocorre conversão de  $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  em  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , isto é, a modificação em sua estrutura cristalina<sup>98</sup>.

O pirofosfato produzido, por exemplo, pela conversão de  $\text{CaHPO}_4$ , é capaz de reduzir a taxa de dissolução da hidroxiapatita<sup>98,99,100</sup>



Obtivemos com o laser de Ho:YLF, nas condições determinadas, uma menor dissolução de cálcio diante de um ambiente ácido. Na Figura 11, pode-se notar que a razão das concentrações de cálcio/fósforo aumentou nos grupos II, III e IV, demonstrando que houve uma menor desmineralização do esmalte após este ter sido irradiado pelo laser em comparação ao grupo I, em que não houve irradiação laser (grupo-controle). Isso se deve provavelmente a um aumento dos átomos de cálcio e a uma possível diminuição dos átomos de fósforo, o que está de acordo com Cecchini<sup>42</sup>, que relatou que a taxa de cálcio nos espécimes irradiados pelo laser não diminuiu em comparação com os outros tratamentos, e houve uma diminuição na taxa de fósforo diante da irradiação com o laser de Nd:YAG quando associado à posterior aplicação de APF. Os achados deste trabalho estão de acordo com os resultados de Morioka & Tagomori<sup>101</sup>.

Alterações na estrutura e composição do esmalte dental humano irradiado com o laser de argônio e Nd:YAG foram investigadas em Microscopia de Luz Polarizada e Espectroscopia de Infravermelho. Houve redução na quantidade de água, substâncias orgânicas e carbonato, concluindo que o esmalte irradiado possuía alguns espaços pequenos dentro e entre os cristais. A redução na quantidade de carbonato reflete na resistência ácida, pois esta redução pode aprimorar o grau cristalino. No esmalte irradiado, o cálcio liberado devido ao ataque pela solução desmineralizadora é incorporado e depositado nos pequenos espaços produzidos pelo laser<sup>37</sup>. Esta afirmação vem ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho, no qual não foi observada diminuição da concentração de

átomos de cálcio após a irradiação com laser de Ho:YLF, e posterior desmineralização.

Outros estudos<sup>60,66,67</sup> expuseram amostras de esmalte em 1ml de APF e incubaram-nas a 37° C por 24 horas, lavando-as em seguida com água destilada por um minuto. Já nos experimentos desta dissertação, o flúor permaneceu em contato com o esmalte durante 24 horas por meio de uma bolinha de algodão embebida neste. Em um grupo piloto em que foram analisados dentes pré-molares humanos pela técnica de Fluorescência de Raios-X, não foi possível detectar uma maior absorção do flúor pela superfície de esmalte irradiada. A resolução do equipamento de Fluorescência de Raios-X talvez não tenha permitido a leitura precisa do elemento flúor, ou quando da preparação das amostras deste grupo piloto estas não estavam planas o suficiente, como preconizado para possibilitar essa análise sem que variações de sinal muito significativas ocorram. Em um segundo grupo piloto, em que foram utilizados dentes pré-molares humanos para a realização de Microanálise por Energia Dispersiva de Raios-X, também não conseguimos detectar uma maior absorção do flúor na superfície de esmalte irradiada. Isso pode ter ocorrido pelo fato de o flúor ser um elemento químico de baixo peso molecular, muito volátil e portanto de difícil detecção segundo duas técnicas mencionadas, fazendo com que nesta fase de execução do trabalho não fosse mais acrescentada a leitura das concentrações de átomos de flúor. Esses fatos estão também de acordo com os resultados obtidos por Cecchini<sup>42</sup>, em que é relatada a mesma dificuldade na detecção do elemento flúor.

Após a irradiação com o laser de Ho:YLF foram observadas alterações morfológicas do esmalte, como a sua fusão, por meio da microscopia eletrônica de varredura. Procurou-se uma possível relação destas alterações com os dados obtidos na análise quantitativa dos elementos cálcio e fósforo.

A alteração estrutural mais significativa obtida neste trabalho foi a demonstração da perda das características da estrutura da superfície dos prismas, provavelmente devido a uma fusão do esmalte. Esta fusão conjuntamente com a perda de água e substâncias orgânicas podem ser responsáveis pela alteração na permeabilidade e solubilidade do esmalte irradiado.

Os mesmos resultados foram alcançados por Cecchini<sup>42</sup> e Tagomori & Iwase<sup>103</sup>, em que alcançaram redução na permeabilidade e solubilidade do esmalte irradiado, ocorrida devido aos efeitos térmicos do laser. Os autores obtiveram baixa taxa de solubilidade, e em análise por Microscopia Eletrônica de Varredura foi encontrada uma superfície com aparência de fusão e recristalização.

Pela análise por microscopia de varredura podemos sugerir que as amostras onde a superfície de esmalte bovino foram irradiadas com densidades de energia maiores ( $350\text{J}/\text{cm}^2$  e  $450\text{J}/\text{cm}^2$ ) não sofreram desmineralização provocada pelo tratamento ácido, resultado este diferente da amostra que foi irradiada com uma menor densidade de energia ( $100\text{J}/\text{cm}^2$ ) e da amostra controle (não irradiada), que sofreram desmineralização causada pelo tratamento ácido. Sugere-se que estes resultados obtidos sejam devidos a uma camada de fusão

mais uniforme e espessa ocorrida nestes grupos (III e IV), em que as densidades de energia foram de  $350\text{J}/\text{cm}^2$  e  $450\text{J}/\text{cm}^2$ , respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos pela análise de fluorescência de raios-x, em que foi possível mostrar que os grupos irradiados pelo laser de hólmio e tratados posteriormente com flúor apresentaram uma menor diminuição da razão das concentrações de cálcio e fósforo, mostrando-se mais resistentes à desmineralização.

Os resultados da presente pesquisa estão de acordo com os trabalhos citados anteriormente, uma vez que o aspecto característico de fusão e ressolidificação também foi observado para o comprimento de  $2,065\mu\text{m}$ . Estes aspectos contribuem para o aumento da microdureza do esmalte, tornando-o mais resistente à dissolução dos ácidos e contribuindo como forma auxiliar na prevenção de cáries<sup>5,7</sup>.

O aumento de temperatura nas diferentes estruturas dentárias, provocado pela irradiação laser, é fundamental para a determinação da extensão de mudanças morfológicas e na estrutura química do tecido irradiado. As regiões do visível e do infravermelho próximo do espectro eletromagnético são absorvidas pela dentina e pelo esmalte, e como existe espalhamento, a distribuição de energia depositada no tecido ocorre em um volume muito maior.

O laser de érbio também é um laser que apresenta boa interação com os tecidos dentais, pois sua emissão em  $2,94\mu\text{m}$  encontra-se no pico de absorção da água, além de apresentar uma alta absorção pela hidroxiapatita. Este laser tem

como vantagem provocar menor elevação de temperatura na estrutura dental durante a sua incidência, quando comparado a outros lasers, atuando efetivamente na remoção de tecidos duros dentais<sup>74</sup>. No entanto, ele apresenta desvantagens com relação ao laser de hólmio no que se refere à sua condução por fibra óptica especial, como as cristalinas (por exemplo: fluoreto de zirconia e safira) de custo muito elevado, ou de guia de onda oco. O laser de hólmio, por sua vez, permite a utilização de fibras ópticas de sílica ou quartzo, que permitem fácil acesso à cavidade oral e possuem baixo custo. Além disso, os parâmetros de irradiação necessários para ablasionar a estrutura dental diferem dos valores responsáveis pela formação de trincas. O laser de érbio, no entanto, apresenta estes dois parâmetros muito próximos<sup>75</sup>.

Durante este trabalho experimental, não foi utilizada a fibra do laser de hólmio, pois a amostra foi fixada em um posicionador micrométrico, para que ela fosse varrida perpendicularmente e de uma forma uniforme em toda sua área a ser percorrida bem como tivéssemos certeza de que nenhuma área ficasse sem ser irradiada ou fosse irradiada por mais vezes do que o desejado; fator este observado durante os trabalhos com o grupo piloto, em que observamos que a área irradiada com a fibra e de uma forma pontual não nos proporcionou uma área irradiada tão uniforme como neste sistema de motor de passo, interferindo nos nossos resultados. Neste trabalho, a irradiação do esmalte com o laser de Ho:YLF com densidades de energia de  $350\text{J}/\text{cm}^2$  e  $450\text{J}/\text{cm}^2$  ocasionaram aumentos de temperatura intrapulpar entre  $3,8^\circ\text{C}$  e  $4,2^\circ\text{C}$ , respectivamente, o que está de acordo com o trabalho de Strefezza (2001)<sup>8</sup>, em que o aumento de

temperatura foi de 1° C para a densidade de energia de 286,7J/cm<sup>2</sup> e de 4,5° C para a densidade de energia de 477,8J/cm<sup>2</sup>.

A irradiação destas amostras de esmalte não ocasionou uma elevação significativa da temperatura intrapulpar, de modo que está assegurada a prevenção da injúria intrapulpar, considerando que esses valores estão abaixo do limiar de elevação de temperatura suportados pela polpa (até 5,5° C), de acordo com Zach & Cohen, 1965<sup>102</sup>.

Cohen et al. (1996)<sup>80</sup>, empregando o laser de Ho:YAG como coadjuvante na redução bacteriana intracanal, demonstraram que não foi alcançado um aumento de temperatura superior a 5° C, utilizando potências médias e freqüências de 0,5W e 5Hz; 0,75W e 0,5Hz e 1W e 5Hz.

Zeziel et al. (1996)<sup>81</sup>, avaliaram *in vitro* alterações de temperatura na câmara pulpar, com o laser de Ho:YLF, durante simulação de preparo cavitário classe I. Nesse trabalho utilizaram energia de 500mJ/pulso e densidade de energia de 2079J/cm<sup>2</sup>, elevando a temperatura a 3,8° C. Com este aumento de temperatura estaria assegurada a manutenção da vitalidade pulpar para o caso de uma aplicação em trabalhos *in vivo*.

A opção de se utilizar um fotoiniciador (nanquim) previamente à irradiação foi testada em grupos piloto e comparada a outros grupos em que não foi utilizado o nanquim. Análises pela microscopia eletrônica de varredura mostraram que o

grupo no qual havia sido utilizado o iniciador propiciou uma fusão mais uniforme e eficaz.

Visando ao mesmo objetivo, um iniciador à base de nanquim foi utilizado nos trabalhos de Morioka & Tagomori (1988)<sup>36</sup>, Oho & Morioka (1989)<sup>37</sup> e Tagomori & Iwase (1995)<sup>103</sup>, utilizando o laser de Nd:YAG pulsado. Em 1996 Lobene & Fine<sup>104</sup> pintaram a superfície de esmalte com outros pigmentos como sulfato férrico, sulfato de cobre e tinta nanquim, irradiaram amostras com uma energia de 50J com o Korad K-2 QP-laser de rubi. A superfície de esmalte que mostrou maior efetividade do laser foi a pincelada com nanquim.

A deposição de um pigmento absorptivo sobre o esmalte dental antes da irradiação laser é um artifício necessário quando se quer diminuir a densidade de energia necessária para induzir alterações na superfície do esmalte irradiado, reduzindo conseqüentemente os riscos de injúrias pulpares por excessivo aumento da temperatura intrapulpar<sup>105</sup>.

Mais recentemente, Boari<sup>21</sup>, utilizando uma solução de carvão diluída em álcool, demonstrou que esta apresenta-se bastante adequada para o uso com laser de neodímio, pois consegue promover a fusão e ressolidificação do esmalte ocorridos quando o pigmento usado é a tinta nanquim. Esta solução é de fácil remoção dos sulcos e fissuras das superfícies oclusais do esmalte, ao contrário da tinta nanquim que penetra nos sulcos prejudicando a estética. No entanto, a dificuldade encontrada na solução de carvão foi a de manter a consistência adequada para a sua aplicação, pois como o álcool presente na mistura evapora muito rapidamente, esta se torna bastante espessa dificultando a sua aplicação

ou às vezes fazendo com que a camada aplicada se torne mais espessa do que o desejado. Esta foi uma das motivações da escolha de utilizar-se o nanquim.

Optou-se neste trabalho pelo tratamento com flúor fosfato acidulado (APF – 2% NaF; 0,68M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; pH 5,3) posterior à irradiação do laser de hólmio, baseando-se em dados da literatura em que autores obtiveram um melhor resultado com essa associação<sup>3,5,7,21,36,42,43,44,46</sup>

A escolha por utilizar ácido láctico com o intuito de avaliar o grau de mineralização é baseada em pesquisas realizadas na literatura<sup>58,66,67</sup>. Optou-se por deixar as amostras expostas a este ácido láctico somente por um período de seis horas, discordando de pesquisas anteriores<sup>58,66,67</sup>, nas quais as amostras foram imersas na solução de ácido láctico por um período de 24 horas. A opção de deixar as amostras em contato com o ácido por meio de uma bolinha de algodão por um período de apenas seis horas foi em razão de uma preocupação de não causar uma desmineralização excessiva nas amostras, removendo toda a camada de esmalte fundido, o que acarretaria medidas de fluorescência de raios-X em profundidade ou posição distante daquela modificada pelo laser de hólmio.

Portanto sugere-se que as mudanças morfológicas e químicas, nas condições citadas anteriormente, devam ser fatores primordiais no aumento da resistência à desmineralização das amostras de esmalte irradiadas com laser de hólmio.

## 8 CONCLUSÕES

- Foi observada uma redução na desmineralização da superfície do esmalte das amostras irradiadas com o laser de Ho:YLF e tratadas com APF, em relação ao controle, tratado apenas com APF.
- A análise da razão de átomos de cálcio em relação a fósforo indicou que as superfícies de esmalte dos grupos irradiados com laser de hólmio + APF e ácido láctico, se tornaram mais resistentes à ação dos ácidos em relação ao grupo tratado somente com APF e ácido láctico, diferindo com significância estatística a um nível de 0,01%.
- Mudanças morfológicas, como fusão e ressolidificação do esmalte irradiado com laser de hólmio, foram verificadas por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura. Também foi possível observar que as amostras dos grupos III e IV foram pouco afetadas morfológicamente pelo desafio ácido.
- A monitoração *in vitro* da temperatura na câmara pulpar, em tempo real, durante a irradiação da superfície de esmalte nas condições estabelecidas, ocasionou um aumento máximo de temperatura de 4,2° C, o que segundo a literatura não causará danos pulpares quando utilizado *in vivo*.

Estes resultados indicam que o laser de hólmio é uma alternativa promissora no que diz respeito à odontologia preventiva, podendo ser útil como coadjuvante na prevenção de cáries clinicamente.

## **9 APÊNDICE**

### **9.1 Lista de Abreviaturas**

#### **9.1.1 Acrogramas**

CA: Califórnia

CDC: Centro de Controle de Doenças

CNEN: Comissão Nacional de Energia Nuclear

CNPq: Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento

CW: C(ontinuous) W(ave), onda contínua

Et al.: et alii, e outros

EUA: Estados Unidos da América

FDA: Food and Drug Administration – Administração de drogas e alimentos

FOUSP: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

IPEN: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LASER: L(igth) A(mplification) by S(timulated) of E(mission) R(adiation)–  
amplificação da luz por emissão estimulada de radiação

LILT: L(ow) I(ntensity) L(aser) T(herapy)–terapia com laser de baixa intensidade

MASER: M(icrowave) A(mplification) by S(timulated) E(mission) of R(adiation)  
–amplificação de microondas por emissão estimulada de radiação

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura ou microscópio eletrônico de varredura

USA: United States of America

USP: Universidade de São Paulo

### 9.1.2 Biologia

EGM: estreptococos do grupo *mutans*

pH: potencial hidrogênico

### 9.1.3 Unidades

° C : graus Celsius ou graus centígrados

cm: centímetro

cm<sup>2</sup> : centímetro quadrado

CPOD: prevalência de cárie dental

Hz: Hertz

J: Joule – unidade de energia

J/cm<sup>2</sup> : Joules por centímetro quadrado

mJ: milijoule

m: metro

M: molar

Min: minuto

ml: mililitro

mm: milímetro

ms: milissegundo

ppm: partes por milhão

µm: micrômetro

nm: nanômetro

ns: nanossegundo

OH<sup>-</sup>: hidroxila

s: segundo

W: Watt – unidade de potência

%: porcentagem

$\alpha$ : alfa

$\beta$ : beta

#### 9.1.4 Química

APF: flúor fosfato acidulado

ATPF: aplicação tópica de flúor profissional

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ : hidroxiapatita

$\text{CaHPO}_4$ : hidrogenofosfato de cálcio

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ : tricalciofosfato

$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ : dihidrogenofosfato de cálcio

$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ : pirofosfato de cálcio

$\text{Ca}^+$ : íon cálcio

Er: érbio

Er:Tm:Ho:LiYF<sub>4</sub>: matriz hospedeira YLF dopada com érbio, túlio e hólmio

Er:YAG: matriz hospedeira YAG dopada com érbio

Er:YSGG: matriz hospedeira YSGG dopada com érbio

H: hidrogênio

$\text{H}^+$ : cátion hidrogênio

$\text{H}_3\text{PO}_4$ : ácido fosfórico

$\text{HClO}_4$ : ácido perclórico

$\text{HPO}_4^{2-}$ : hidrogenofosfato

Ho: hólmio

Ho:YAG: matriz hospedeira YAG dopada com hólmio

Li: lítio

NaCl: cloreto de sódio

NaF: fluoreto de sódio

Nd: neodímio

Nd:YAG: matriz hospedeira YAG dopada com neodímio

Q-switched: chaveamento tipo Q

O: oxigênio

$\text{PO}_4^{-3}$ : fosfato

Y: ítrio

YAG: Y(trium) A(luminum) G(arnet), granada de ítrio e alumínio;  $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ : óxido de ítrio alumínio

YLF: Y(trium) L(ithium) F(luorid), fluoreto de ítrio e lítio;  $\text{LiYF}_4$ : fluoreto de ítrio lítio

$\text{YVO}_4$ : ítrio – alumínio – granada, óxido de ítrio-vanádio

TEA: transversely excited atmospher pressure

L: litro

## 9.2 Lista de Figuras

	Página
Figura 1: Interação primária da luz com os tecidos.....	26
Figura 2: Análise espectrofotométrica de esmalte (absorção, reflexão e transmissão) de 250 a 2500nm .....	27
Figura 3: Espectro de absorção da água e hidroxiapatita para a região do ultravioleta, visível e infravermelho.....	29
Figura 4: Diagrama dos níveis de energia do laser de Er:Tm:Ho:LiYF <sub>4</sub> .....	
Figura 5: Laser de Er:Tm:Ho:LiYF <sub>4</sub> , com emissão em 2,065µm.....	60
Figura 6: Irradiação da superfície de esmalte bovino com laser de Ho:YLF .....	62
Figura 7: Aparelho de fluorescência de Raios-X RIX 3000, Rigaku 1996.....	64
Figura 8: Detalhe da tela do programa de operação do aparelho de fluorescência de raios-X.....	64
Figura 9: Porta amostra utilizado na técnica de fluorescência de raios-X.....	65
Figura 10: Foto do sistema para monitoração de temperatura.....	68

Figura 11: Diagrama esquemático do sistema para monitoração para monitoração de temperatura.....	69
Figura 12: Resultados da espectrometria de fluorescência de raios-X em relação a razão de cálcio e fósforo antes e após a irradiação das amostras de esmalte bovino com o laser de hólmio.....	72
Figura 13: Médias para razão de átomos de Ca/P , antes e após a irradiação com o laser de hólmio.....	73
Figura 14: Médias e desvio padrão para a razão de átomos de Ca/P.....	73
Figura 15: Variação da temperatura no esmalte irradiado com densidade de energia de 350J/cm <sup>2</sup> e 0,5Hz.....	78
Figura 16: Variação da temperatura no esmalte irradiado com densidade de energia de 450J/cm <sup>2</sup> e 0,5Hz.....	79
Figura 17: Esmalte dental bovino tratado com APF + ácido láctico.....	80
Figura 18: Esmalte dental bovino sem tratamento – controle.....	81
Figura 19: Esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio (100J/cm <sup>2</sup> ) (maior aumento).....	81

Figura 20: Esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio (100J/cm <sup>2</sup> ) + APF e ácido láctico (maior aumento).....	82
Figura 21: Esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio (350J/cm <sup>2</sup> ).....	83
Figura 22: Esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio (350J/cm <sup>2</sup> ) + APF e ácido láctico (maior aumento).....	84
Figura 23: Esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio (450J/cm <sup>2</sup> ).....	85
Figura 24: Esmalte dental bovino irradiado com laser de hólmio (450J/cm <sup>2</sup> ) + APF e ácido láctico.....	86
Figura 25: Dinâmica do desenvolvimento de cárie. Acúmulo de bactérias sobre os dentes (1); ingestão de açúcar (2); produção de ácido (3); quedas de pH (4); com perdas de minerais das estruturas dentais (4 <sup>a</sup> ); retorno do pH a normalidade (5) para esmalte-dentina (6); remineralização (6 <sup>a</sup> ); repetição do ciclo (7); manifestação da doença cárie (8).....	89

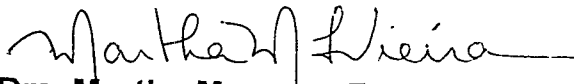
### 9.3 Lista de Tabelas

Tabela 1: Tratamento das amostras.....	58
Tabela 2: Condições de irradiação das amostras.....	61
Tabela 3: Médias e Desvios Padrão ( entre parêntesis) para a razão Ca/P.....	72
Tabela 3.1: Tabela da Análise de Variância para a razão Ca/P.....	76
Tabela 3.2: Comparações múltiplas pelo método de Tukey para a razão Ca/P (as diferenças significativas estão hachuradas).....	76
Tabela 3.3: Comparações múltiplas pelo método de Tukey Para a razão Ca/P no momento anterior. (as diferenças significativas estão hachuradas).....	77
Tabela 3.4: Comparações múltiplas pelo método de Tukey para a razão Ca/P no momento posterior. (as diferenças significativas estão hachuradas).....	77

**10 ANEXO****Parecer - Projeto Nº 0014/CEP-IPEN/SP**

Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa "Estudo das alterações morfológicas e químicas de tecidos duros dentais irradiados por lasers no infravermelho próximo", de responsabilidade do(a) pesquisador(a) **Denise Maria Zezell** foi considerado **APROVADO**.

São Paulo, 11 de novembro de 1999

  
**Dra. Martha Marques Ferreira Vieira**  
Coordenadora do CEP-IPEN

## 11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

<sup>1</sup> SOGNAES, R. F.; STERN, R. H. Laser effect on resistance of human dental enamel to demineralization in Vitro. *J. South Calif. State Dent. Assoc.*, v. 33, n. 8, p.328-329, aug.1965.

<sup>2</sup> EDUARDO, C.P.; ZECELL, D. M.; CECCHINI, S.C.M.; DE ROSSI, W.; RANIERI, I.M.; MORATO, S.P.; MATSUMOTO, K. Scanning electron microscopy analysis of enamel and dentin irradiated by holmium laser. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY. 4. Singapore, Aug. 6-10, 1994. **Abstracts of papers.** Singapore, s.n., 1994. p. 35.

<sup>3</sup> ZECELL, D.M.; CECCHINI, S.C.M.; EDUARDO, C.P.; MATSUMOTO, K.; De ROSSI, W.; NOGUEIRA, G.E.C.; BERRETTA, J.R.; VIEIRA, Jr., N.D.; MORATO, S.P. Experimental studies of the applications of holmium laser in dentistry. *J. Clin. Laser Med. Surg*, v..13, n..4, p..283-9, 1995.

<sup>4</sup> ZECELL, D.M.; CECCHINI, S.M.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Temperature changes under Ho:YLF irradiation. *SPIE*, v. 2672, p. 34-9, 1996.

<sup>5</sup> ZECELL, D. M.; BONK, P. A.; SALVADOR, V. L. R.; ROSSI, W.; RANIERI, I. M.; BACHMANN, L.; EDUARDO, C. P.; JÚNIOR, N. D. V.; MORATO, S. P. Combined effects of holmium laser and fluoride in prevention of dental caries *in vitro*. *Ver. Física Aplicada e Instrumentação*, 13 (2): 21-23, 1998.

- 
- <sup>6</sup> STREFEZZA, C.; ZECELL, D.M.; BACHMANN, L.; CECCHINI, S.C.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Lasers parameters for safe endodontical procedures. DGL, Alemanha, 1999.
- <sup>7</sup> BONK, P.A. **Avaliação da mudança da microdureza na superfície de esmalte dentário irradiada com laser de hólmio e modelamento das microexplosões.** 1999. Dissertação (Mestrado) - IPEN/USP.
- <sup>8</sup> STREFEZZA, C. **Efeitos in vivo do laser de hólmio em estrutura dental.** 2001. Dissertação (Mestrado) – USP.
- <sup>9</sup> BARATIERI, L.N. **Odontologia restauradora – fundamentos e possibilidades.** 1<sup>a</sup> ed. Port. Livraria Editora Santos, 2001.
- <sup>10</sup> CAULFIELD, P.W. **Odontologia Materno - Infantil: Controle de Infecção Precoce x Impacto da Doença Cárie.** Curso Ministrado no Ciclo de Atualização Amil Dental. Rio de Janeiro, maio de 1998.
- <sup>11</sup> CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) **Guidelines for School Health Programs.** **MMWR**, 1996, 45 No RR – G p.4.
- <sup>12</sup> MARSH, P.D. Host defenses and microbial homeostasis: role of microbial interactions. **J. Dent. Res.**, 68: 1567-75, 1989.
- <sup>13</sup> ELLEN, R.P.; LEPINE, G.; NGHIEM, P.M. *In vitro* models that support adhesion specificity in biofilms of oral bacteria. **Adv. Dent. Res.**, 11: 33-42, 1997.

- 
- <sup>14</sup> ADAIR, S.M. Overview of the history and current status of fluoride supplementation schedules. **J. Public Health Dent.**, v. 59(4), p. 252-8, 1999.
- <sup>15</sup> CARVALHO, A. S. & CURY, J.A. Fluoride release from dental materials in different solutions. **Operative Dentistry**, v. 24 (1), p. 14-19, jan./feb., 1999.
- <sup>16</sup> GUEDES PINTO, A.C. **Odontopediatria clínica**. Editora Artes Médicas. Série EAP.; APCD, v. 2, 1998.
- <sup>17</sup> SCHEIE, A. Quimioprofilaxia da cárie dentária. In: Thylstrup, A.; Fejerskov, O. **Cariologia clínica**. 2<sup>a</sup> ed. Livraria Editora Santos, 1995.
- <sup>18</sup> OPPERMAN, R.V. Effect of chlorhexidine on acidogenicity of dental plaque *in vivo*. **Scan J. Dent. Res.**, v. 18, p. 302-308, 1979.
- <sup>19</sup> TWETMAN, S.; PETERSON, L. G. Comparison of the efficacy of three different chlorhexidine preparations in decreasing the levels of mutans streptococci in saliva and interdental plaque. **Caries Res.**, v. 32, p. 113-118, 1998.
- <sup>20</sup> SABA-CHIYFI, E.; QUIROZ-SILVA, E.C.; SABA, M.E.C.; SABA, A. K. A eficácia da formulação contendo o anti-séptico triclosan associado ao polímero gantrez e ao flúor, utilizada através de bochechos para controle químico da placa bacteriana dentária. **Revista ABO Nac.**, v. 6, n. 3, jun./jul. 1998.

- 
- <sup>21</sup> 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.** 2000. Dissertação (Mestrado)—Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- <sup>22</sup> KRAMER, P. F.; FELDENS, C. A.; ROMANO, A. R. **Promoção de saúde bucal em odontopediatria.** Editora Artes Médicas, 1997.
- <sup>23</sup> CARVALHO, J.C. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. **J. Dent. Res.**, v. 68, p. 773-779, 1989.
- <sup>24</sup> STAHL, J. W.; KATZ, R. V. Occlusal dental caries incidente in college students: implications for sealants. **J. Dent. Res.**, v. 71, (Spec. Iss), p. 250, 1999.
- <sup>25</sup> **Prev. News** – The Oral Care Report. V. 7, n. 2, p. 3-5, 1997.
- <sup>26</sup> BORSATTO, M. C.; CORONA, S. A. M.; PALMA, R. G.; RAMOS, R. P.; PECORA, J. D. Microleakage of a resin sealant after acid-etching, Er:YAG laser irradiation and air-abrasion of pits and fissures. **J. Clin. Laser Med & Surg**, 19: (2) 83-87 Apr 2001.
- <sup>27</sup> GIERTSEN, E.; EMBERLAND, H.; SCHEIE, A. Effects of mouth rinses with xylitol and fluoride on dental plaque and saliva. **Caries Res.**, v. 33, p. 23-31, 1999.

- 
- <sup>28</sup> GRENBY, T.H.; SALDANHA, M.G. Studies of the inhibitory action of intenses sweeteners on oral microorganisms relating to dental health. **Caries Res.** 20: 7-16, 1986.
- <sup>29</sup> STERN, R.H.; SOGNAES, R.F. Laser beam effect on dental hard tissues. In: International Association for Dental Research. General Session & Exhibition, 42., mar. 19-22, 1964. abstracts of Papers. Los Angeles. **J. Dent. Res.**, v. 43, p. 873, 1964. (resumo)
- <sup>30</sup> STERN, R. H.; SOGNAES, R. F. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. **J.A.D.A.**; v. 85, f. 5, 1087-1090, 1972.
- <sup>31</sup> TEM CATE, A. R. **Histologia bucal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1895.
- <sup>32</sup> CARRUTH, J.A.S.; MCKENZIE, A.L. **Medical lasers**. Englang: Adam Hilger, 1986. p. 269
- <sup>33</sup> KELLER, U.; HIBST, R. Ultrastructural changes of enamel and dentin following Er:YAG laser radiation on teeth. In: **LASER SURGERY: ADVANCED CHARACTERIZATION THERAPEUTICS, AND SYSTEMS II**. 1990. **Proceedings...** California: The International Society for Optical Engineering, 1990. v. 1200, p. 408-15.

---

<sup>34</sup> RIBEIRO, M.S. **Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele.** 2000. Tese(Doutoramento), IPEN/SP

<sup>35</sup> 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.

<sup>36</sup> MORIOKA, T.; TAGOMORI, S. Applicability of Nd:YAG laser on prevention of dental caries. Laser surgery characterization and therapeutics. SPIE, v. 907, p. 94-97, 1988.

<sup>37</sup> OHO, T. MORIOKA, T. Compositional and structural changes of human lased enamel. **J. Jap. Soc. Laser Dent.**, v. 9, n. 3, p. 205, 1988.

<sup>38</sup> OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acids resistance of human dental enamel by laser irradiation. **Caries Res.**, v. 24, n. 2, p. 86-92, Mar./Apr. 1990.

<sup>39</sup> TAGAMORI, S. MORIOKA, T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. **Caries Res.** , v..23, n..4, p..225-231, 1989.

<sup>40</sup> CERNAVIN, I. A comparison of the effects of the Nd:YAG and Ho:YAG laser irradiation on dentin and enamel: a preliminary study. In: **International Congress on Lasers In Dentistry. 4.** Singapore, August 6-10, 1994. Abstracts of papers. Singapore, s.n., 1994. p. 23. (resumo)

- 
- <sup>41</sup> 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 (mestrado) – USP.
- <sup>42</sup> CECCHINI, R. C. M. **Estudo *in vitro* do efeito do alser de Nd:YAG em esmalte dental: análise de fluorescência de raios-X e microscopia eletrônica de varredura.** 1997. Dissertação (Mestrado) – USP.
- <sup>43</sup> PELINO, J. L. **Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dental humano: análise por Microscopia Óptica e MEV.** 1998. Dissertação (Mestrado) – São José dos Campos.
- <sup>44</sup> CECCHINI, R.C.; PELINO, J.E; MELLO, J.B.; CARDOSO, J.B.; SALVADOR, V.I.; EDUARDO, C.P. Acid resistance of enamel treated with Nd:YAG laser associated with fluorid and exposed to a *s. mutans* culture nedia. In: **6<sup>th</sup> International Congress of Lasers in Dentistry**, p. 53-57, 1998.
- <sup>45</sup> ROHANIZADEH, R.; LEGEROS, R. Z.; FAN, D.; JEAN, A.; DACULSI, G. Ultrastructural properties of laser-irradiated an heat-trated dentón. **J. Dent. Res.**, v. 78, n. 12, p. 1829-1835, Dec.1999.

- 
- <sup>46</sup> ZEZELL, D.M.; BOARI, H.G.D.; EDUARDO, C.P. Nd:YAG Laser in caries prevention: a clinical study. In: 1<sup>st</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR ORAL LASER APPLICATIONS, 01, 2001, Vienna. **Abstracts...**Vienna: ESOLA, 2001. p. 16.
- <sup>47</sup> FERREIRA, M.V.L.; ZEZELL, D.M. *In vitro* study of hidroxiapatite and enamel powder fused in human enamel by Nd:YAG laser. In: 1<sup>st</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR ORAL LASER APPLICATIONS, 01, 2001, Vienna. **Abstracts...**, Vienna: ESOLA, 2001. p. 18.
- <sup>48</sup> ANTUNES, A.; ROSSI, de W.; 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: 1<sup>st</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR ORAL LASER APPLICATIONS, 01, 2001, Vienna. **Abstracts.....**, Vienna: ESOLA, 2001. p.45.
- <sup>49</sup> BORGGREVEN, J.M.P.; DUK, J.W.; DRIESSENS, F.C.M. Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental. **Archs. Oral Biol.**, v. 25, p. 74-79, 1980.
- <sup>50</sup> NELSON, D.G.A.; JONGEBLOED, W.; FEATHERSTONE, J.D.B. Laser irradiation of human dental enamel and dentin. **New Zealand Dental Journal**, V. 82, p. 74-77, 1986.

---

<sup>51</sup> SLAYTON, R.L.; WEFELL, J.S. Effects of laser irradiation on occlusal surfaces of human molars. **J. Dental Res.** v. 70, p.193, n. Esp. Abst. 1818, 1991.

<sup>52</sup> FOX, J.L.; YU, D.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W.I.; WONG, J.; POWELL, G. Combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. **Caries Res.**, v. 26, p. 333-39, 1992.

<sup>53</sup> NAMMOUR, S.; SQUILBIN, C.R.; BEHETS, C.N. Increased resistance to artificial caries-like lesions in dentin treated with CO<sub>2</sub> laser. **Caries Res.**, v. 26, p.170-75, 1992.

<sup>54</sup> FEATHERSTONE, J.D.B.; BARRET-VESPONI, N.A.; FRIED, D.; KANTAROWTZ, Z.; SIKI, W. CO<sub>2</sub> inhibition of artificial caries like lesion progression in dental enamel. **J. Dental Res.**, v. 7(6), p. 1397-1403, 1996.

<sup>55</sup> FEATHERSTON, J.D.B.; FRIED, D.; BITTEN, E.R. Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel. **SPIE**, v. 2973, p. 112-116, Bellingham, 1997.

<sup>56</sup> ZANTOROWITZ, Z.; FEATHERSTONE, J.; FRIED, D. Caries prevention by CO<sub>2</sub> laser treatment: dependency on the number of pulses used. **J.A.D.A.**, v. 129, p. 585-591, 1998.

<sup>57</sup> HSU, J.; FOX, J.L.; WANG, Z.; POWELL, G.L.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W.J. Combined effects of laser irradiation solution fluorid ion on enamel demineralization. **J. Clin. Laser Med. & Surg.** v. 16:2, p. 93-106, 1998.

- 
- <sup>58</sup> HOSSAIN, M.M.I.; HOSSAIN, M.; KIMURA, Y.; KINOSHITA, J.; SUZUKI, N.; MATSUMOTO, K. Caries-preventive effect of CO<sub>2</sub> laser irradiation with diamine silver fluoride solution. **J. Oral Laser Applications—ESOLA**, v. 1, n. 1, p. 13-18, 2001.
- <sup>59</sup> GOODMAN, B.D.; KAUFMAN, H. W. Effects of Argon laser on the crystalline properties and rate of dissolution in acid of tooth enamel in the presence of sodium fluoride. **J. D. Res.**, v. 56: 10-12, p.1201-1207, 1977.
- <sup>60</sup> BLANKENAU, R. J., POWELL, L.; ELLIS, R. W.; WESTERMAN, G. H. *In vivo* caries-like lesion prevention with Argon laser: pilot study. **J. Clin. Laser Med. & Surg.**, v. 17:6, p. 241-243, 1999.
- <sup>61</sup> ANDERSON, J.R.; RANDALL, W.E.; BLANKENAU, R.J.; BEIRAGHI, S.M.; WESTERMAN, G.H. Caries resistance in enamel by laser irradiation and topical fluoride treatment. **J. Clin. Laser Med. & Surg.**, v. 18:1, p. 33-36, 2000.
- <sup>62</sup> MORIOKA, T.; TAGOMORI, S.; OHO, T. Acid resistance of lased human enamel with Erbium:YAG laser. **J. Clin. Laser Med. & Surg.**, June 1991.
- <sup>63</sup> FRIED, D.; FESTHERSTONE, D. B.; SISURI, S.R.; SEKA, W.W.; WALSH, J.T. The caries inhibition potencial of Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation. **SPIE Proceedings of Lasers in Dentistry II**, v. 2672, p.73-77, 1996.

- 
- <sup>64</sup> EDUARDO, C. P.; PELINO, J. E. P.; HAYPEK, P. The clinical use of lasers in dentistry. In: 1<sup>st</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR ORAL LASER APPLICATIONS, 01,2001, Vienna. **Abstracts...**, Vienna: ESOLA, 2001, p.3.
- <sup>65</sup> EDUARDO, P.L.P.; RAMOS, A.C.B.; EDUARDO, C.P. The use of the Er:YAG laser in cavity preparation – clinical cases. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, 1998, Maui. **Abstracts...**, Maui: International Society of Lasers in Dentistry, 1998, p. 62.
- <sup>66</sup> HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; KIMURA, Y.; YAMADA, Y.; MITSHIRO, I. MATSUMOTO, K. Caries–preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. **J. Clin. Laser Med. & Surg.**, v. 18, n. 2, p.61-65, 2000.
- <sup>67</sup> HOSSAIN, M.; KIMURA, Y. ; YAMADA, Y. SUZUKI, N.; NAKAMURA, Y.; MATSUMOTO, K. Acquired acid resistance of enamel and dentin irradiated by Er Cr:YSGG laser. In: 1<sup>st</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR ORAL LASER APPLICATIONS, 01, 2001, Vienna. **Abstracts.....**, Vienna: ESOLA, 2001, p. 15.
- <sup>68</sup> QUINTO Jr., J.; OLIVEIRA, M.V.; WETTER, N.U.; RATTICHERI, F.; ZECELL, D.M.; EDUARDO, C.P. Morphological and thermal analysis of resolidified dental enamel surface after DYE assisted irradiation with diode laser. In: 1<sup>st</sup> Congress of the European Society for Oral Laser Applications, 01, 2001, Vienna. **Abstracts...**, Vienna: ESOLA, 2001. p. 9.

---

<sup>69</sup> DOMANKEVTZ, Y.; McMILLAN, K; NISHIOKA, N.S. Characterization of tissue ablation with a continues wave holmium laser. **Lasers Surg. Med.**, v. 19, p. 97-102, 1996.

<sup>70</sup> JOHNSON, L.F.B.; NASSAU, K. Optical maser characteristics of  $Tm^{+3}$  in  $CaWO_4$ . **Proc. IRE**, G.D., 50, n. 86, 1962.

<sup>71</sup> BUCHELT, M. B.; KUTSCHERA, H.P.; KATTERSCHAFKA, T.; KISS, H.; SCHNEIDER, B.; ULLRICH, R. Erb:YAG and Hol:YAG laser ablation of meniscus and intervetebral discs. **Lasers Surg. Med.**, v. 12, n. 4, p. 375-81, 1992.

<sup>72</sup> JONHSON, D.E.; CROMEENS, D.M.; PRICE, R.E. Use of holmium:YAG laser in urology. **Lasers Surg. Med.**, v. 12, n. 4, p. 353-63, 1992.

<sup>73</sup> CECCHINI, S. C.; ZECELL, D. M.; BACHMANN, L.; STREFEZZA, C.; PINOTTI, M.; GESSÉ, E.; EDUARDO, C. P. Evaluation of two laser systems for intracanal irradiation. **Proc. Lasers in Dentistry**, v. 3593, p. 31-35, USA. 1999.

<sup>74</sup> PICK, R.M. Using lasers in clinical dental practice. **J.A.D.A.**, v. 124, p. 37-47, 1993.

<sup>75</sup> WIDGOR, H.A.; WALSH J. R.; T.T.; FEATHERSTON, J.D.B.; VISURI, S.R.; FRIED, D.; WALDVOGEL, J.L. Lasers in dentistry. **Lasers Surg. Med.**, v. 16, p.103-33, 1995.

---

<sup>76</sup> ALTSHULER, G.; BELIKOV, A.; EROFEEV, A. Human tooth enamel and dentin damage by holmium laser radiation. **Laser Surgery. SPIE**, v. 1643, p. 454-463, 1992.

<sup>77</sup> GUTKNECHT, N.; MORITZ, M.N.; BURGHARDT, S.F.; LAMPERT, F. The efficiency of root canal disinfection using a Holmium: Yttrium-Aluminum-Garnet laser *in vitro*. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 15(2), p. 75-8, 1997.

<sup>78</sup> MORITZ, M.N.; GUTKNECHT, N.; SAILER, H.F.; HERING, P.; PRETTL, W. Laboratory investigation of the efficacy of Holmium:YAG laser irradiation in removing intracanal debris. **SPIE**, v. 2973, p. 150-56, 1997.

<sup>79</sup> MORITZ, A.; SHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; JAKOLISTSCH, S.; KLUGER, W.; WERNISCH, J.; SPERR, W. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: an *in vitro* comparison. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 17(4), p. 161-164, 1999.

<sup>80</sup> COHEN, B.I.; DEUTSCH, A.S.; MUSIKANT, B.L. Effect of power setting on temperature change at the root surface when using a Holmium:YAG laser in enlarging the root canal. **Journal of Endodontics**, v. 22, p. 596-99, 1996.

<sup>81</sup> ZECELL, D.M.; CECCHINI, S.M.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Temperature changes under Ho:YLF irradiation. **SPIE**, v. 2672, p. 34-9, 1996.

---

<sup>82</sup> ASHOURI, N.; SHORI, R.; CHEUNG, J. M.; FRIED, D. Infrared laser ablation of dental enamel: influence of an applied water layer on ablation rate and peripheral damage. **SPIE**, v. 4249, p. 72-78, 2001.

<sup>83</sup> MATSUMOTO, K.; NAKAMURA, Y.; WAKABAYASHI, H. A morphological study on the cavity preparation by pulsed holmium:YAG laser. **J. Showa Dent. Cong.**, v. 10, p. 279-82, 1990.

<sup>84</sup> WHITE, J. M.; GOODIS, H.E.; MARSHALL, S.J.; MARSHALL, G.W. Caries removal in enamel and physical threshold identification of dentin with Nd & Ho:YAG lasers. In: International Congress on Lasers In Dentistry, 3. Salt Lake City, Aug. 6-8, 1992. **Proceedings...** S.1. International Society of Lasers in Dentistry. 1992. p. 121-2.

<sup>85</sup> GOODIS, H.E.; WHITE, J.M. ; MARSHALL, S.J. ; MARSHALL, G.W. Evaluation of the Nd:YAG and Ho:YAG laser in root canal preparation and sterilization. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY. 3. Salt Lake City, Aug. 6-8, 1992. **Proceedings...** S.1. International Society of Lasers in Dentistry. 1992. p. 79-80.

<sup>86</sup> WHITE, J.M.; GOODIS, H.E.; MARSHALL, G.W.; MARSHALL, S.L. Identification of the physical modification threshold of dentin induced by neodymium and holmium YAG lasers using scanning electron microscopy. **Scanning Microsc**, v. 1, n.1, p. 239-46, 1993.

---

<sup>87</sup> HOLT, R.A.; NORDQUIST, R.E. Holmium:YAG in dentistry: photoconditioning of dentinal surface. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOMEDICAL OPTICS. Los Angeles, Jan. 22, 1994. **Proceedings...** California: The International Society for Optical Engineering, 1994. v. 2128, p. 34. (resumo).

<sup>88</sup> STEVENS, B.H.; TROWBRIDGE, H.O.; HARRISON, G. SILVERSTON, S.F. Dentin ablation by Ho:YAG laser: correlation of energy versus volume using stereophotogrammetry. **J. Endod.** , v. 20, n. 5, p. 246-9, May, 1994.

<sup>89</sup> TARELHO, L.V.G. Estudos Espectroscópicos dos processos de transferência de energia relevantes para obtenção de ação laser do hólmio no cristal Er:Tm:Ho:YLF. Dissertação de mestrado – IPEN, 1995.

<sup>90</sup> BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P.A. **Estatística básica**. 4ª. ed. São Paulo: Atual Editora, 1987. p. 321

<sup>91</sup> NETER, J.; WASSERMAN, W.; KUTNER, M.H. **Applied linear statistical models**. 3ª. ed. Homewood, Illinois: Irwin, 1990. p. 1127

<sup>92</sup> WINER, B.J. **Statistical principles in experimental designs**. 2ª. ed. New York: McGraw-Hill, 1971. p. 907

---

<sup>93</sup> LI, YH; BOWDEN, G.H. The effect of environment pH and fluorid from the substratum on the development of biofilm of select oral bacteria. **J. Dent. Res.**, v. 73, p. 1615-1626, 1994.

<sup>94</sup> MARQUEZ, QUINTANA, C.; ROCA, I.; SALGADO, J. Physical-mechanical effects of Nd:YAG laser on <sup>+</sup> surface of sound dental enamel. **Biomaterials**, v. 14, n. 4, p. 313-316, 1993.

<sup>95</sup> KELLER, U.; HIBST, R. Ultrastructural changes of enamel and dentin following Er:YAG laser radiation on teeth. In: **LASER SURGERY: ADVANCED CHARACTERIZATION THERAPEUTICS, AND SYSTEMS II**. 1990. **Proceedings**. California: The International Society for Optical Engineering, 1990. v. 1200, p. 408-15.

<sup>96</sup> CECCHINI, S.C.M. **Estudo *in vitro* das aplicações do laser de hólmio:YLF em esmalte e dentina, visando a realização de cirurgia de acesso endodôntico e preparo cavitário**. 1995. Dissertação (mestrado) – USP.

<sup>97</sup> MORIOKA, T.; TAGOMORY, S.; TSUTSUNI, H. Effect of laser irradiation on fluorid uptake in enamel – by EPM surface scanning. **J. Jap. Soc. Laser Dent.** – Abstract. 1986.

<sup>98</sup> FOWLER, B.O.; KURODA, S. Changes in heated and in laser irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. **Calcif. Tissue Int.**, v. 38, p.197-208, 1986.

<sup>99</sup> CHRISTOFFERSON, J.; CHRISTOFFERSON, M.R. Kinetics of dissolution of calcium hydroxiapatite: IV. The effect of some biologically important inhibitors. **J. Crystal Growth**, v. 53, p. 42-54, 1981.

<sup>100</sup> DUVAL, C. **Differential thermogravimetric analysis**. New-York: Elsevier, 1963. 722 p.

<sup>101</sup> MORIOKA, T.; TAGOMORI, S. Enhancing effects of Nd:YAG laser on remineralization of incipient caries. In: **Laser Surgery: advanced Characterization, Therapeutics, and Systems III**, R. R. Anderson, editors, Proc. **SPIE** 1066, p. 217-218 (1989).

<sup>102</sup> ZACH, L.; COHEN, G. Pulp response to externally applied heat. **Oral Surg.**, v. 19, p. 515-530, 1965.

<sup>103</sup> TAGOMORI, S.; IWASE, T. Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd:YAG laser. **Caries Res.** 29: 513-520, 1995.

<sup>104</sup> LOBENE, R.R.; FINE, S. Interaction of laser radiation with oral hard tissue. **J Prosthet Dent.**, v. 16, n. 3, p. 589-597, May/June 1996.

<sup>105</sup> MORIOKA, T.; SUZUKI, K.; TAGOMORY, S. Effect of beam absorption mediators and resistance of surface enamel by Nd:YAG laser irradiation. **The Journal of Dental Health**, v. 34, n. 1, jan. 1984.



M22537



***Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares***  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária - CEP 05508-000  
Fone (0XX11) 3816-9000 - Fax (0XX11) 3812-3546  
SÃO PAULO - São Paulo  
[Http://www.ipen.br](http://www.ipen.br)

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear e associada à Universidade de São Paulo para fins de ensino de Pós-Graduação.