**BIBLIOTECA DIGITAL DE TESES E DISSERTAÇÕES**
**UNESP**

RESSALVA

Alertamos para ausência da figura 8, não incluída pelo autor no arquivo original.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**

**LAURA ELENA HIDALGO DE ANDRADE**

# RESISTÊNCIA À CÁRIE DE ESMALTE DENTAL IRRADIADO POR LASERS DE Er:YAG E Nd:YAG, AVALIADA ATRAVÉS DA MORFOLOGIA E PROPORÇÃO Ca/P

**Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", ao Curso de Pós-graduação em Odontologia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Área de concentração: Dentística Restauradora).**

**Orientador:** ***Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Jr.***

**Co-orientador:** ***Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato***

**ARARAQUARA**

**2002**

# DADOS CURRICULARES

## LAURA ELENA HIDALGO DE ANDRADE

| | |
|---|---|
| NASCIMENTO | 18 / 08 / 70 - SAN SALVADOR<br>EL SALVADOR,<br>AMÉRICA CENTRAL |
| FILIAÇÃO | Rigoberto Hidalgo Berrios<br>Rosa Elena Garcia de Hidalgo |
| 1989-1996 | Curso de Graduação<br>Faculdade de Odontologia da<br>Universidade Evangélica de<br>El Salvador- UEES |
| 1999-2001 | Curso de pós-graduação em<br>Dentística Restauradora, nível de<br>Mestrado, na Faculdade de<br>Odontologia de Araraquara- UNESP |

**O caminho de Deus é perfeito;**
**a promessa do Senhor  é digna de confiança;**
**Deus protege a aqueles que Nele confiam!**
**Pois quem é Deus senão o Senhor?**
**Há outro Deus que possa nos proteger?**
**Deus é quem me dá forças,**
**e aplana o meu caminho.**
**Torna os meus pés velozes como os das gazelas,**
**e me instala nas alturas.**
**Adestra minhas mãos para o combate,**
**e meus braços para o tiro de arco.**
**Tu me proteges e me salvas,**
**Tua destra me sustenta;**
**e Tua bondade me faz prosperar.**
**Alargas o caminho a meus passos,**
**para meus pés não resvalarem...**

**Viva O Senhor!, Bendito seja meu Protetor!**
**Exaltado seja Deus meu Salvador!**

# DEDICATÓRIA

A **Deus Todo-Poderoso**, porque tudo em minha vida é fruto do seu amor e misericórdia. Porque os Seus planos para mim, vão além dos sonhos e desejos do meu coração, e a cada momento da minha vida, posso contemplar a Sua Fidelidade.

A meu amado **Roberto**, obrigado por ser um homem de Deus, por me amar incondicionalmente e partilhar as alegrias e tristezas comigo. Sem dúvida, você é o homem que Deus fez para mim, muito mais do que eu sempre sonhei....Te amo!

Aos meus pais **Rigoberto** e **Rosa Elena**, por seu amor infinito, paciência e apoio. Porque seu exemplo de vida tem me ensinado a lutar com amor e perseverança pelos meus objetivos, e porque apesar da distância, sempre têm estado presentes em todos os momentos da minha vida. Obrigado por tudo, este também é um triunfo de vocês!

As minhas irmãs **Ingrid**, **Claudia** e cunhado **Calín**, por seu carinho e apoio. Aos meus sobrinhos maravilhosos **Carlitos**, **Paolita**, **Adrianita** e **Pablito**, sempre os levo no meu coração.

As minhas avós **Emmita** e **Laura**, que são parte fundamental da minha vida, as amo e espero que Deus as mantenha com saúde por muito mais tempo.

Aos meus sogros **Juanita e Romeo**, por me confiar o seu tesouro, por me amar, respeitar e me ensinar o valor de um filho. Os amo muito.

A toda minha **Família**, **Tios**, **Primos** e **Parentes**, que tem me apoiado com suas orações durante todo este tempo longe. Obrigado.

# AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos coordenadores do curso de pós-graduação na área de Dentística Restauradora, **Prof. Dr. Sizenando de Toledo Porto Neto** e **Prof. Dr. José Roberto Cury Saad**, por me permitirem fazer parte do curso.

A meu orientador **Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Jr.**, por seu apoio incondicional, confiança e amizade. Obrigado por ter me acolhido com alegria e dedicado muitas horas de paciência e ensinamentos. Agradeço a Deus por sua vida.

A meu co-orientador **Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato**, por nos abrir as portas do Instituto de Física de São Carlos e nos apoiar e orientar com seus vastos conhecimentos na área de Laser. Obrigado pela confiança.

Ao **Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica** e ao **Grupo de Óptica do Instituto de Física de São Carlos / USP**, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

À **Prof$^{a}$. Rosane de Fátima Zanirato Lizarelli**, por ser parte fundamental do desenvolvimento desta pesquisa. Obrigado pelo apoio, amizade, paciência e confiança para comigo e me ensinar a descobrir o mundo do Laser.

# AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Evangélica de El Salvador**, pelo apoio e excelente formação.

À Direção da Faculdade de Odontologia de Araraquara, em especial a **Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abí Rached** e **Prof. Dr. Roberto Esberard**, por me abrir as portas desta faculdade.

Aos professores do Departamento de Dentística Restauradora, **Osmir, Salette, Neto, Saad, Marcelo, Sillas, Ueide e Welingtom**, pelos ensinamentos recebidos.

Aos professores do Departamento de Materiais e Prótese, **Caco, Ana Lúcia, Eunice, Ana Cláudia, João Arioli, Cinara, Carlos Cruz, Renata, Gelson** e **Geraldo**, obrigado pela dedicação, apoio e confiança que sempre recebi de vocês.

Ao **Prof. Dr. Jaime Cury**, pelo fornecimento de informações para o desenvolvimento metodológico desta pesquisa.

Ao **Prof. Romeu Magnani**, pelo assessoramento estatístico deste trabalho.

A **Lilian**, aluna, estagiaria e integrante do Grupo de Óptica do Instituto de Física de São Carlos / USP, pela valiosa colaboração nesta pesquisa.

Aos meus colegas de Mestrado **Patrícia, Elaine, Alessandra, Cristina, Liz, Luana, Emanuel, Antônio Luiz (Taiuva) e Ricardo**, pelos momentos de alegria e trabalho que partilhamos.

A **Adriana Beloti**, você é responsável em grande parte por eu estar aqui hoje. Obrigado por confiar em meu trabalho, por me ensinar a dar os primeiros passos no Brasil e mais do que tudo , pela alegria e amizade sincera que encontro em você.

A minha amiga e irmã **Débora**, a tua vida para mim, é um exemplo de valor, decisão e coragem. Obrigada pelo carinho e apoio. Você é um presente de Deus para mim!

A **Adriana** e **Biba**, obrigada pelo apoio e trabalho que partilhamos, porque com certeza não só crescemos profissionalmente, mas também como pessoas.

Aos meus irmãos e amigos do Grupo de Oração Universitário, **Débora, Ana Lígia, Patty, Joyce, Fer, Jú, Patty, Isabela, Simone, Dani, Bruno, Daninha, Rodrigo e Roberto** pelas orações e momentos de alegria que vivemos juntos. Agradeço a Deus pela vida de cada um de vocês.

Aos meus amigos **Marcelo** e **Jussara**, porque através dos momentos de tanta benção que temos partilhado nos estudos Bíblicos, Deus me ensina o valor incalculável da amizade. Muito obrigado por tudo.

A **Ricardo** e **Regina**, porque através da alegria e do louvor para Deus, vivemos momento de profunda adoração e regozijo. Vocês são muito especiais.

Aos meus amigos, **Erika, Sofia, Janaina, Cliciane, Cristiane, Adriana da Fonte, Ana Karina, Alessandro, Domício, Rodrigo, Bruno, Adriana Beloti,** e **Robertson**, pela sua amizade. Que Deus os abençoe abundantemente.

Às funcionárias da pós-graduação desta Faculdade, **Mara**, **Rosangela** e **Vera**, obrigada por seu apoio.

Aos funcionários da biblioteca, **Maria Helena, Inês, dona Odete, Adriano, Eliane, Silvia e Maria José**, pela colaboração prestada durante todo este tempo.

Aos funcionários do departamento de Dentística Restauradora, **Cláudio**, **Marinho**, **Vanderlei**, **Adriana**, **Cidinha**, **dona Cida**, **Lenira** e **Celinha**, pelo carinho e ajuda.

# SUMÁRIO


- Introdução.....13
- Revisão da Literatura.....16

Efeito da irradiação do laser de Er:YAG sobre o esmalte dentário.....17

Efeito da irradiação do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dentário.....26

Efeito do desgaste com fresa diamantada sobre o esmalte dentário.....33

- Proposição.....35
- Material e Método.....37
- Resultado.....53
- Discussão .....74
- Conclusão.....97
- Referências Bibliográficas.....99
- Anexos.....106
- Resumo.....116
- Abstract.....118

## Introdução

Em função da sua diversidade, a Laserterapia tem sido indicada para uma grande variedade de procedimentos em odontologia, razão pela qual é necessário que o profissional conheça as diferenças entre os vários aparelhos que existem no mercado, bem como os efeitos dos mesmos sobre os tecidos, a fim de garantir o sucesso do tratamento.

De forma geral a tecnologia laser permite a realização de procedimentos mais conservadores, muitas vezes indolores e cicatrização mais rápida.

Entre algumas das indicações dos laser se encontram, redução bacteriana de canais radiculares contaminados, cirurgias de tecidos moles, condicionamento do esmalte, impermeabilização dentinária no tratamento da hipersensibilidade dental, como potencializador dos agentes de clareamento dental, fotopolimerização de compósitos, limpeza de sulcos e fissuras, confecção de preparos cavitários, remoção de tecido cariado, e até, como método preventivo de cárie dental.

Entre os mais utilizados na prática odontológica, temos os lasers de Er:YAG e Nd:YAG, os quais são, basicamente sistemas com meio ativo de estado sólido, constituído por um cristal de Itrio-alumínio-granada dopados com érbio ou neodímio, respectivamente. Estes sistemas emitem lasers com comprimento de onda localizados na faixa dos infravermelhos no espectro electromagnético (Er:YAG/ 2940nm e Nd:YAG/ 1064nm), o que os caracteriza para aplicações clínicas em odontologia.

Durante a utilização clínica destes tipos de lasers (Er:YAG e Nd:YAG), temos observado que existe o risco de ocorrer irradiação acidental das superfícies dentais adjacentes ou até de dentes vizinhos, o que poderia

comprometer a integridade dos tecidos dentais duros. Além disto, o profissional dificilmente percebe esta ocorrência, uma vez que a aplicação do laser não produz resposta sensorial motora, diferente de um acidente com fresas ou brocas em alta rotação, onde é possível sentir quando esta entra em contato com alguma superfície vizinha.

Tanto para os acidentes com laser como com fresa, é muito raro que o profissional tome alguma providencia após estes acontecimentos. Geralmente, trata-os como ocorrência de pequena importância sem conseqüências clínicas maiores.

Consultando a literatura sobre os possíveis danos à estrutura dental, não encontramos dados que esclareçam se o esmalte acidentalmente irradiado por laser ou danificado pela fresa, apresenta-se mais susceptível ao ataque de cárie nas condições bucais, bem como, se existe a necessidade ou não de tomar alguma medida de proteção.

Por estas razões, acreditamos que se faz necessário desenvolver modelos experimentais nos quais se verifique o efeito que exerce o desgaste por fresa ou a irradiação acidental do laser sobre o esmalte dental, a fim de fornecer subsídios que permitam criar protocolos de prevenção para este tipo de acidentes.

# Revisão da literatura

Em função do exposto e para uma melhor compreensão do tema, dividimos a revisão de literatura por assuntos.

### *Efeito do laser de Er:YAG sobre o esmalte dentário*

Com o propósito de investigar a eficiência do laser de Er:YAG em esmalte e dentina, através da taxa de ablação, Hibst & Keller[15] em 1989, utilizaram dentes humanos extraídos. A ablação do esmalte e dentina pela irradiação laser foi investigada em cinco superfícies cariadas e vinte e cinco superfícies intactas. A luz laser foi focalizada perpendicularmente sobre os espécimes por meio de uma lente biconvexa de quartzo, com irradiação de 30 a 360 mJ por pulso, com uma taxa de repetição de 1 Hz. O diâmetro da cavidade produzida foi determinado por micrometria ocular e sua profundidade foi determinada pela focalização da superfície adjacente e da base da cavidade com o micrômetro aferidor do microscópio. Para comparação, cavidades do mesmo tamanho foram produzidas com o laser de $CO_2$, com irradiações de 1J de energia total e combinações de potência e tempo de exposição de 20W / 499ms. Os autores concluíram que o esmalte e a dentina são removidos pelo processo contínuo de vaporização, promovendo uma boa qualidade das paredes da cavidade. As medidas de temperatura indicaram que durante a irradiação com o laser de Er:YAG, uma quantidade mínima de aquecimento é transmitida aos tecidos adjacentes por difusão térmica quando comparada com as medidas encontradas com o laser de $CO_2$.

No mesmo ano, Keller & Hibst[22] realizaram a segunda parte do trabalho, avaliando os efeitos do laser de Er:YAG em irradiação focalizada e em pequenos

pulsos nos tecidos mineralizados adjacentes, comparando os resultados encontrados com o laser de $CO_2$. Para este propósito utilizaram 30 dentes humanos. O laser de $CO_2$ emitindo comprimento de onda de 10,6µm foi focalizado a uma distancia de 125 mm e irradiação de 1J de energia total, aplicado em combinação de potências e tempos de exposição de 20W / 50W e 2W / 500ms. As cavidades tiveram aproximadamente o mesmo tamanho quando comparadas com as realizadas com laser de Er:YAG. Os parâmetros de utilização do laser de Er:YAG foram os mesmos utilizados na primeira parte do trabalho anterior. O exame dos espécimes tratados com o laser de Er:YAG sob microscopia óptica e de varredura, não revelaram nenhuma zona de carbonização ou fusão como as observadas nos espécimes tratados com o $CO_2$, nem fissuras ou fraturas ao redor dos tecidos duros dos dentes. As cavidades irradiadas com o laser de $CO_2$ com 2W / 500ms, mostraram um esmalte com superfície irregular e paredes vítreas, prismas derretidos e fissuras bastantes claras. Em contraste, estes fenômenos não foram observados nas cavidades produzidas com o laser de Er:YAG, sendo que elas se apresentaram com aspecto rugoso sem sinais de injúrias sérias e sem modificações na disposição dos cristais de hidroxiapatita do esmalte e dentina.

Paghdiwala,[31] em 1991, utilizou o laser de Er:YAG, com exposição de 4s e 24 pulsos, com duração de 250µs cada, afirmando que não ocorreu aumento de temperatura que provocasse injúria pulpar e que a irradiação da luz laser nos dentes produziu dois efeitos distintos: pequenos orifícios e crateras. Através de microscópio ótico foi observado, em orifícios de 0,24 a 0,55mm de diâmetro e 2,5mm de profundidade, a presença de um bisel nas margens de esmalte ao redor dos mesmos, sem a presença de rachaduras e somente um leve

esbranquiçado e carbonização das margens (encontrada somente em um dente). Em outros espécimes onde foram produzidas crateras de 0,73 a 1,25mm de diâmetro e aproximadamente 250µm de profundidade, as margens mostraram-se com descoloração marrom, sem rachaduras e as bases cobertas com depósitos esbranquiçados e não brilhantes. O autor descreve que através do microscópio eletrônico de varredura, uma cavidade mostrou um orifício central de 0,24mm circundado por uma faixa de esmalte alterado de 100µm contendo micro fissuras que se arranjavam em uma porção da circunferência, de forma concêntrica, com a presença de poros e cristais de hidroxiapatita derretidos e vaporizados. Estes poros estavam rodeados por bordas elevadas de tecido inorgânico fusionado e recristalizado.

Kayano et al.,[21] em 1991, realizaram uma pesquisa com o objetivo de avaliar *in vitro*: o efeito da irradiação com laser de Er:YAG sobre o esmalte; a possibilidade de adquirir resistência ácida no esmalte marginal adjacente à região ablacionada e o efeito de ablação na forma de contato, sobre esmalte, dentina e cemento. Para os primeiros dois experimentos utilizaram os seguintes parâmetros: largura de pulso de 200µseg., energia de 500mJ, tamanho da ponta de 3.14mm$^2$, densidade de energia de 15.9J/cm$^2$, repetição dos pulsos de 1 e 3pps e número de pulsos de 100, 50, 30, 15 e 3. Já no terceiro experimento, utilizaram energia de 39, 74 e 211mJ, tamanho da ponta de 0.49 e 0.64mm$^2$, repetição de pulsos de 10pps, e número de pulsos de 10. As amostras do primeiro experimento foram preparadas para serem analisadas através de microradiografías, enquanto que as do segundo experimento, após a irradiação foram submetidas a desafio cariogênico numa solução desmineralizadora com ph de 4,5 contendo, 6% de hidroxietil celulose e 0,1M de lactato, durante 4 dias,

avaliado-as também através de microradiografías. Os resultados demonstraram que a irradiação nas formas de contato e não-contato com laser de Er:YAG, podem ablacionar o tecido dental duro sem formar trincas. Além disso após a desmineralização, a região não irradiada do esmalte desenvolveu uma área esbranquiçada e radiográficamente radiolúcida. Já o esmalte marginal adjacente à ablação, se manteve sem mudança de cor e na microradiografía não revelou áreas radiolúcidas.

Morioka et al.,[29] em 1991, com o propósito de avaliar o efeito da irradiação com laser de Er:YAG na resistência ácida do esmalte, utilizaram parâmetros de 0.39 J/pulso, 10 pps, 10 descargas; 0.92J/pulso, 2pps, 10 descargas; 0.92J/pulso, 1 descarga; sobre a superfície de dentes pintados com tinta preta ou branca. As amostras foram desmineralizadas em 1ml de solução de 0.5M $HCLO_4$ por período de 30 segundos e a resistência ácida do esmalte foi determinada pela dissolução do cálcio da superfície do esmalte. Posteriormente, a desmineralização subsuperficial foi determinada através de microradiografías, após vários dias de exposição à formação de cárie, em 50ml de solução de 0.1M gel lactato com ph de 4,5, contendo 6%(w/v) de hidroxietil celulose a $37^0$C. Os resultados mostram que o aumento de Joules por pulso, repetições e número de descargas, tende a conduzir maior resistência ácida do esmalte. A menor desmineralização subsuperficial foi observada no esmalte irradiado, na presença ou não de tinta. Microscopicamente as amostras irradiadas com ausência de tinta, se apresentaram com maior grau de alteração, deixando uma superfície rugosa e em forma de cratera.

Li et al.,[25] em 1992, para determinar *in vitro*, a profundidade de ablação por pulso de energia do laser de Er:YAG a 2 e 5 Hz, utilizaram segmentos

transversais de esmalte e dentina humanos, comparado-os com esmalte intacto. Os resultados da observação no microscópio eletrônico de varredura indicaram, mínimos efeitos térmicos no esmalte em intensidades abaixo de 80 J/cm$^2$ e em dentina abaixo de 74 J/cm$^2$. Além disso houve uma estreita correlação da profundidade de ablação por pulso de energia, entre os segmentos transversais de dente e esmalte intacto. Os autores sugeriram que o laser de Er:YAG com 2Hz e 5Hz, pode ablacionar efetivamente o esmalte e dentina com mínimos efeitos térmicos.

Burkes et al.,[3] em 1992, observaram a estrutura dental e as mudanças de temperatura na polpa de dentes extraídos. Na análise no microscópio eletrônico de varredura, os dentes irradiados com laser pulsado de Er:YAG sem jato de água (58mJ de energia) mostraram uma mínima taxa de ablação no esmalte, se observaram fragmentos arredondados de barras de esmalte, esmalte derretido, trincas e espaços vazios com margens suaves. A temperatura medida através de um sensor térmico, subiu mais do que 27$^0$C. Por outro lado, quando utilizaram o laser de Er:YAG associado a fino jato de água em diferentes energias (56mJ, 60mJ e 95mJ), observaram uma taxa de ablação maior, fissuras e crateras cônicas com projeções ponteagudas de esmalte remanescente, quando observados no microscópio eletrônico de varredura. A temperatura intrapulpar subiu em torno de 4$^0$C. Os autores sugerem que o laser de Er:YAG com jato de água, remove esmalte e dentina sem produzir mudanças significativas na temperatura pulpar.

Paghdiwala et al.,[32] em 1993, estudaram os efeitos das mudanças na estrutura dental, a elevação da temperatura e a profundidade dos cortes produzidos pelo laser de Er:YAG. Concluíram que a taxa de ablação e a

elevação de temperatura, variou significantemente em função da potência e do tempo de exposição sobre o dente, sem a utilização de jato de água. Já os resultados da irradiação com jato de água indicaram que, o processo de ablação foi melhor, a elevação da temperatura foi menor e as mudanças estruturais foram mínimas comparadas com as mudanças observadas nos dentes irradiados sem água durante o tratamento.

Jelínková et al.,[20] em 1996, analisaram a profundidade e o diâmetro de cavidades preparadas com o laser de Er:YAG, quanto ao tempo de irradiação, numero de pulsos e tipo de tecido alvo. Os autores observaram que, quando utilizaram 10 pulsos de 70 a 500mJ de energia e taxa de repetição de 1 ou 2 Hz, a profundidade da cavidade no esmalte variou de 0,14 a 0,9mm e em dentina de 0,55 a 1,51mm. O diâmetro da cavidade foi menor no grupo onde a taxa de repetição era de 2Hz. Quando utilizaram 2 e 20 pulsos de 300mJ de energia, a profundidade da cavidade em esmalte foi de 0,2 e 0,6mm respectivamente e 0,4 e 1,5mm em dentina. Concluíram, que o laser de Er:YAG pode produzir cavidades bem definidas em esmalte e dentina apresentando-se limpas, sem grandes danos aos tecidos duros adjacentes e sem carbonização da dentina quando são realizadas com refrigeração adequada.

Em 1999, Tokonabe et al.,[41] realizaram um trabalho com o objetivo de avaliar as mudanças morfológicas e composição química (Ca e P) de esmalte e dentina irradiados com laser de Er:YAG, com ajuda do microscópio eletrônico de varredura e da análise de energia dispersiva de raios X (EDX). Para isso, utilizaram 40 superfícies de dentes extraídos, irradiando-os com 300mJ de energia durante 5 segundos, tanto em esmalte quanto em dentina. Os resultados mostraram superfícies de esmalte com margens bem definidas, limpas, com

formato tipo "escamoso" tanto nas paredes quanto no fundo das cavidades. Na dentina houve ausência de smear layer, com túbulos dentinários abertos, margens limpas e bem definidas. Nenhuma das superfícies mostrou danos térmicos, carbonização ou trincas. Os elementos químicos das áreas irradiadas ou não, mostraram os picos de Ca, P e proporção Ca/P, proporcionais aos valores normais.

No mesmo ano, Hossain et al.,[17] desenvolveram uma pesquisa com o interesse de determinar as taxas de ablação e avaliar as mudanças morfológicas em esmalte e dentina humanos, irradiados com laser pulsado de Er:YAG, com ou sem a utilização de jato de água. Os parâmetros utilizados foram:100 a 400mJ, freqüência de 2Hz, durante 5 segundos. Os resultados mostraram que, o uso de jato de água reduziu minimamente a profundidade de ablação, quando comparado com as irradiações sem água. Morfologicamente, se observaram cavidades esbranquiçadas e opacas, com margens definidas e limpas, com superfícies tipo "escamosas" e ausência de danos térmicos ao redor do esmalte e dentina, quando refrigeradas com água. Na dentina com altas energias, mostrou túbulos abertos e carbonização de cor marrom nas margens e paredes das cavidades. Os autores concluem que, de acordo aos resultados obtidos, a relação entre energia e profundidade de ablação, foi sempre linear, tanto em esmalte quanto em dentina.

Em 2000, Hossain et al.,[18] realizaram um trabalho *in vitro,* para avaliar o efeito da irradiação com laser de Er:YAG (400mJ/p, 2Hz, 5 segundos, focalizado na forma de não contato a distância de 2cm) com ou sem jato de água, na resistência ácida do esmalte e dentina humana. Após a irradiação as amostras foram submetidas a 2 ml de solução de 0,1M de ácido láctico com pH4,8 por

período de 24 horas a $36^0$C e a concentração de íons $Ca^{2+}$ dissolvidas em cada solução (ppm), foram determinadas através de espectrometria de absorção atômica. Os resultados mostraram que, a menor perda de íons $Ca^{2+}$ppm foram encontradas nas amostras irradiadas sem jato de água, seguidas pelas irradiadas com água e por último as controle. A observação com o microscópio eletrônico de varredura, mostrou que na ausência de água, houve fusão do esmalte e dentina, diferente de aquelas com água, que se mostraram com aspecto tipo "escamoso", sem smear layer e com fragmentos de esmalte visíveis. Os autores sugerem que a irradiação com laser de Er:YAG sem jato de água se apresentou mais efetivo para a prevenção de cárie, realizando uma fusão suficiente do esmalte e dentina, aumentando assim, a resistência à desmineralização ácida.

Cecchini [5] em 2001, com o intuito de avaliar *"in vitro "* os efeitos da radiação do laser de Er:YAG -Key Laser, sobre a superfície do esmalte visando aumento da sua resistência em solução ácida através da análise de Ca e P, estudaram as seguintes condições: 1) 60mJ/p, 2Hz, 33,3J/$cm^2$ empregando a ponta 2051- não contato; 2) 80mJ/p, 2Hz, 44,4J/$cm^2$ empregando a ponta 2051- não contato; 3) 120mJ/p, 2Hz, 66,6J/$cm^2$ empregando a ponta 2051- não contato; 4) 64mJ/p, 2Hz, 20J/$cm^2$ empregando a ponta 2055, fibra 50/10- contato; 5) 86,4mJ/p, 2Hz, 26,9J/$cm^2$ empregando a ponta 2055, fibra 50/10- contato; 6) 135mJ/p, 2Hz, 42,2J/$cm^2$ empregando a ponta 2055, fibra 50/10- contato; 7) controle. Todas as amostras exceto aso do grupo 7, foram imersas em 2ml de solução tampão de acetato 2,0M, pH 4,5 por 8 horas, sendo que esta solução foi posteriormente analisada e quantificada por espectrometria de emissão atômica, em relação aos íons Ca e P. As amostras irradiadas foram

analisadas morfologicamente através de microscopia eletrônica de varredura. Os resultados revelaram que houve um decréscimo na desmineralização do esmalte nos grupos 1, 2 e 4. E os resultados da análise morfológica mostraram superfície com prismas de esmalte expostos, superfície áspera e em forma de crateras maiores ou menores variando de acordo com a fluência utilizada.

### *Efeito do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dentário*

Yamamoto & Ooya,[45] em 1974, avaliaram o efeito da irradiação com laser de Nd:YAG (10 a 20 J/cm$^2$) sobre esmalte humano sadio, em relação à prevenção de cárie. Após a irradiação, as amostras foram submetidas a desmineralização *in vitr*o, numa solução de ácido láctico com produção de dextran de estreptococos mutans PK-1 crescendo na superfície do esmalte, durante 3 e 7 dias. Os resultados mostraram no grupo de 3 dias de desmineralização, que nas amostras controle houve o aparecimento de manchas esbranquiçadas, cavidades com a periferia desmineralizada e o centro com aspecto de granulação fina, sendo estas as que tiveram maior perda de íons Ca (espectrometria de absorção atômica) e subsuperfície radiolúcida (microradiografía). Já nas amostras irradiadas, apresentaram uma superfície "escamosa", com trincas, fissuras e microporos fusionados. Nelas, houve ausência de desmineralização da subsuperfíce. Por outro lado, no grupo de 7 dias de exposição a desmineralização, as amostras controle, mostraram marcada cavitação com completa exposição da dentina e túbulos abertos. Já as amostras irradiadas mostraram-se mais lisas, com leves trincas, microporos fusionados e sem desmineralização marcada. Os autores concluem que, a irradiação do esmalte com laser de Nd:YAG com baixas densidades de energia, pode aumentar a resistência a cárie dental.

A remoção de cárie dental utilizando-se o laser Nd:YAG, foi estudada por Kimura et al.,[24] em 1983, em dentes bovinos e em dentes humanos. Ambos grupos de dentes foram submetidos a solução desmineralizante e posterior avaliação da mudança do volume cavitário formado. Foi utilizado o laser Nd:YAG focado e desfocado na estrutura dental, variando-se a largura do pulso. As

alterações na composição química e estrutura cristalina do esmalte fundido foram observadas por meio de microradiografia, EPM e difração microlaue. Os resultados mostraram um decréscimo na transmissão do raio-X soft e um aumento na intensidade do raio-X de Ca-Ka e P-Ka, atribuindo esse fato, ao aumento na densidade do esmalte ocasionado pela fusão e ressolidificação do mesmo. Além disso, foi reconhecida pelos autores, a fase de transformação em ortofosfato de uma parte da hidroxiapatita do esmalte.

Oho & Morioka,[30] em 1988, investigaram as alterações na estrutura e composição do esmalte dental humano, após a irradiação com laser de argônio e Nd:YAG, com ajuda do microscópio de luz polarizada e espectroscopia de infravermelho. Os resultados mostraram que, houve redução na quantidade de água, substâncias orgânicas e carbonato, significando que o esmalte irradiado possuía alguns espaços pequenos intra e interprismáticos. A redução na quantidade de carbonato refletiu na resistência ao ácido, porque esta redução pode aprimorar a estrutura cristalina. Os autores observaram que no esmalte irradiado, o cálcio liberado durante o ataque pela solução desmineralizadora, é incorporado e depositado nos pequenos espaços produzidos pelo laser.

Tagamori & Morioka,[40] em 1989, desenvolveram uma pesquisa para avaliar o efeito combinado do laser de Nd:YAG (0 a 100J/cm$^2$, 20pps) e o flúor, na resistência ácida do esmalte dental humano. A irradiação foi antecedida pela colocação de tinta preta na superfície do esmalte com a finalidade de melhorar a sua absorção. Após a irradiação, as amostras foram colocadas em 1,0ml de solução de fluoreto de sódio 2% (NaF) ou em solução de flúor fosfato acidulado (APF) durante 5min, 60min ou 24 horas, a 37$^0$C. Posteriormente, foram submetidas a desmineralização em 1ml de solução de 0,5M $HCLO_4$ durante 30

segundos, a temperatura ambiente. Os resultados mostraram que as amostras irradiadas com 30J/cm$^2$ e tratadas com APF, obtiveram a maior resistência ácida, em comparação aos outros tratamentos. Microscopicamente se observou fundição dos cristais de esmalte com finas trincas e aspecto de "mosaico", antes e após a desmineralização. No caso das amostras somente irradiadas, a distribuição de Ca, P, e F, foi similar ao das amostras controle. Os autores sugerem que a ação combinada da irradiação do laser de Nd:YAG com aplicação de APF, promove uma aparente resistência à descalcificação ácida.

Rode et al.,[35] em 1994, avaliaram a ação do laser de Nd:YAG pulsado com potência média variando de 1,0 a 2,0 W, freqüência de 20 Hz, durante 90 segundos, sobre a superfície de esmalte de molares decíduos. Antes da irradiação realizou-se a profilaxia e metade das fissuras dos espécimes foram pintadas com tinta nanquim preta, com o objetivo de aumentar a absorção da luz laser. A outra metade, não irradiada, serviu como controle. Através do microscópio eletrônico de varredura, os autores observaram que a superfície do esmalte apresentou-se fusionada, com formação de crateras rasas e às vezes, com bordas elevadas, sendo que o efeito foi mais intenso quando se elevou a potência. Outro achado neste estudo foi a diminuição da profundidade das fissuras, sugerindo o seu selamento.

Tagomori & Iwase,[39] em 1995, através de microscopia eletrônica de varredura, examinaram as mudanças ultra estruturais da superfície de esmalte ocorridas pela irradiação com laser de Nd:YAG. Observou-se um derretimento e recristalização da superfície do esmalte, assim como, a coalescência dos glóbulos de esmalte provocada por 10 pulsos de irradiação da luz laser. Os autores comentaram que no caso da irradiação repetida e excessiva da

superfície de esmalte (três aplicações de 10 pulsos), foram produzidas novas partículas de cristais de esmalte com tamanho maior do que as originais (0,2μm de diâmetro). Observaram também em algumas porções, partículas hexagonais de tamanho maior. Em superfícies que apresentavam fraturas, as formas das novas partículas dos cristais de esmalte variavam entre grânulos, partículas pontiagudas em forma de agulha e de colunas. Os autores sugeriram que uma coluna de forma poligonal distinta de mais de 2,0μm de comprimento, poderia ser formada no processo de derretimento homogêneo a altas temperaturas, seguido de contração e resfriamento uniformes. Citaram, que a camada recristalizada de esmalte demonstrou resistência significante a ácidos, mas, que era um pouco frágil. Os autores sugeriram que, os resultados deste estudo suportam a hipótese de que um cristal com tamanho maior pode conferir ao esmalte resistência à ação dos ácidos, quando exposto ao laser pulsado.

Cecchini, [4] em 1997, com o intuito de observar os efeitos do laser de Nd:YAG na superfície do esmalte, em relação ao aumento da resistência à desmineralização através de uma análise quantitativa de Ca, P e F, avaliaram as seguintes 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 Nd:YAG mais aplicação tópica de APF e tratamento com ácido perclórico; 4) irradiação com laser de Nd:YAG seguido de tratamento com ácido perclórico. A análise das amostras antes e após os tratamentos foi realizada por Espectrofotômetro de Fluorescencia de raios X e em Microscopia Eletrônica de Varredura. Os resultados demonstraram que houve uma redução da desmineralização do esmalte frente ao tratamento com ácido perclórico na condição de irradiação com laser de Nd:YAG seguida da aplicação de APF. Os

aspectos estruturais decorrentes da irradiação com laser de Nd:YAG em esmalte dental caracterizam-se por regiões de esmalte fundido e vitrificado, bem como crateras ou depressões e elevações de esmalte fusionado.

Em 1999, Lizarelli & Bagnato[26] desenvolveram um trabalho com o objetivo de analisar as mudanças morfológicas através de microscpia eletrônica de varredura e composição química de esmalte e dentina através de espectrometria de raios X por dispersão de energia, após irradiação com laser de Nd:YAG (1064nm), com e sem ataque de ácido fosfórico 35%. Foram utilizados 4 terceiros molares humanos irradiando as vertentes internas das 3 cúspides com os seguintes parâmetros: cúspide lingual: 60mJ, 15Hz, 0.9W, 60seg, 85 J/cm$^2$; cúspide disto-vestibular: 140mJ, 15Hz, 2.1W, 60seg, 198 J/cm$^2$; cúspide mesio-vestibular: 200mJ, 15Hz, 3.0W, 60seg, 283J/cm$^2$. Para o teste em dentina, o dente foi cortado transversalmente no terço médio da coroa expondo o tecido dentinário. A superfície foi então dividida em 4 quadrantes através de um sulco, e cada quadrante foi irradiado com uma potência diferente: 1) 30mJ, 10Hz, 0,3W, 60s, 42 J/cm$^2$; 2) 80mJ, 10Hz, 0,8W, 60 s, 113 J/cm$^2$; 3) 140mJ, 10Hz, 1,4W, 60s, 198 J/cm$^2$; 4) 200mJ,10Hz, 2,9W, 60 s, 283 J/cm$^2$. Durante cada irradiação, o tecido alvo foi resfriado com ar da seringa tríplice e com sugador de alta potência (fluxo contínuo de ar). Uma amostra de cada, recebeu adicionalmente ataque químico com ácido fosfórico 35%, durante 15segundos. Os resultados mostraram fusão e recristalização do esmalte e dentina, assim como perda de água que os tornou fisicamente friáveis. Após o ataque químico com ácido, ocorreu uma menor resistência desse tecido irradiado ao ácido fosfórico, sendo possível a sua completa remoção. Os autores concluem que o laser de Nd:YAG sob esses parâmetros, promove maior eficiência do ataque

químico com ácido fosfórico a 35%, tanto do esmalte quanto da dentina. Além disso, observaram que quanto maior a potência de irradiação, menor a resistência ao ataque químico; e que as irradiações com laser de Nd:YAG mostraram ser seletivas para as porções orgânicas tanto de esmalte quanto da dentina.

No mesmo ano Pelino et al.,[33] através do microscópio eletrônico de varredura, avaliaram o efeito do laser de Nd:YAG sobre esmalte dental humano, após a desmineralização num meio de cultura de estreptococos mutans a $37^0$C por 15 e 21 dias. Deixando uma janela de 3x4cm na superfície vestibular, irradiaram as amostras com densidades de energia de 83.75 a 187.50J/$cm^2$, sendo que a superfície lingual serviu como controle. Os resultados demonstraram que houve fusão e recristalização do esmalte com aumento da resistência ácida do esmalte irradiado. Por outro lado, as amostras controle mostraram 100% de desmineralização. Os autores concluíram que a irradiação com baixas potências do laser de Nd:YAG, resulta numa redução significante na sua solubilidade do esmalte.

Hossain et al.,[19] em 2001, com o objetivo de observar o efeito do laser de Nd:YAG (1.064µm) sobre a desmineralização de esmalte e dentina, utilizaram 20 molares extraídos e prepararam cavidades pintando-as com tinta preta, tanto em esmalte como em dentina. Foram utilizados parâmetros de 1, 2 e 3 W, e 20 pps para um total de 9 segundos. Na seqüência as amostras foram submetidas a 2µl de 0,1M de solução de ácido láctico com pH de 4,8 por 24 horas a $36^0$C. Através de espectrometria de absorção atômica foi observada a concentração de de íons Cálcio dissolvidos na solução (ppm), sendo que a menor quantidade foi observada no grupo irradiado com 3W seguido do grupo irradiado com 2 W, 1W

e o controle não irradiado. A observação no microscópio eletrônico de varredura demostrou que houve fusão parcial da smear layer e degeneração térmica na superfície do esmalte e dentina. Os autores concluem que a smear layer e a superfície de esmalte ou dentina fundidas pelo efeito fototérmico do laser de Nd:YAG pode desempenhar importante papel no aumento da resistência à formação artificial de lesões de cárie.

### *Efeito da fresa diamantada sobre o esmalte dentário*

Arcuri et al.,[1] em 1993, tiveram como objetivo avaliar a través do microscópio eletrônico de varredura, o esmalte tratado com instrumentos rotatórios e abrasivos. Na primeira parte da pesquisa, o esmalte de dentes humanos foi desgastado com fresas diamantadas de grossa e fina granulação, a fim de testar posteriormente, materiais para polimento. Neste procedimento, observaram uma superfície irregular, com padrão uniforme de estrias, decorrente do tamanho do granulo da fresa. Isto quer dizer que, quando utilizada a fresa de maior granulação, o dano à superfície foi maior do que quando utilizada a fresa de granulação fina.

Xu et al.,[44] em 1997, desenvolveram um trabalho com o objetivo de avaliar o dano provocado na subsuperfície do esmalte decorrente do preparo com fresas diamantadas; e se este dano era dependente do tamanho do granulo da fresa, do grau de remoção do tecido ou se acontecia em direção à orientação dos prismas de esmalte. Os resultados mostraram que na subsuperfície do esmalte aconteciam fraturas de tipo médio, acompanhadas por micro trincas, estendendo-se preferencialmente ao longo do limite entre os prismas de esmalte. Esta fraturas foram significantemente maiores em direção paralela os prismas, do que perpendicular aos mesmos. Os preparos com fresas diamantadas de maior granulação, produziram fraturas no esmalte de 84±30 µm de profundidade e o tamanho das fraturas não foi significantemente diferente quando o grau de remoção de tecido variou. Os autores concluem que após o preparo de esmalte com fresas diamantadas, acontecem fraturas de tamanho médio na subsuperfície do mesmo, que o comprimento delas é sensível ao

tamanho das partículas diamantadas e orientação dos cristais de esmalte, mas insensíveis ao grau de remoção de tecido.

## Proposição

No presente trabalho, nos propusemos a avaliar *"In vitro*" através do estudo da morfologia e proporção Ca/P, a resistência à cárie de esmalte dental desgastado por fresa diamantada ou irradiado por dois tipos de laser Er:YAG e Nd:YAG aplicados em condições que simulam exposição clínica acidental aos mesmos.

# Material e método

### *Seleção dos dentes*

Para este trabalho foram utilizados 25 terceiros molares humanos inclusos, livres de cárie, recentemente extraídos, os quais, foram cuidadosamente limpos com auxilio de escova para profilaxia (Robinson), pedra pomes e bisturi, e posteriormente mantidos em solução de soro fisiológico e alguns cristais de timol, à temperatura de 7°C até o início dos testes.

A utilização dos terceiros molares inclusos, foi devidamente aprovada pelo comitê de ética em pesquisa desta faculdade (ver anexos).

Os dentes estocados foram inicialmente avaliados em Lupa Estereoscópica (Citoval) a fim de identificar e descartar aqueles que apresentem trincas ou defeitos que puderam interferir em nossa pesquisa.

### *Preparo das amostras*

Com auxílio do Micrótomo (ISOMET™ 1000 PRECISION SAW), foi eliminada a porção radicular de cada dente e posteriormente, secionada a coroa clínica em sentido mesio-distal, a fim de se obter dois espécimes de cada dente (vestibular e lingual).

Utilizando resina composta, fixamos 10 cm de fio dental na parte posterior de cada elemento, para facilitar o manuseio dos mesmos durante a pesquisa.

A seguir, com auxílio de fita crepe, demarcamos no terço médio da face externa dos 50 corpos de prova, uma área retangular de 8,0 X 3,0mm$^2$, subdividindo-a em 4 regiões de 2mm cada, que correspondem às áreas de esmalte que foram submetidas aos testes.

Posteriormente, com fresa esférica nº 1014 (KG Sorensen) em alta rotação, foram realizadas marcas de orientação na região superior adjacente à janela isolada, a fim de localizar as áreas que receberiam os tratamentos.

Todas as amostras foram submetidas a sorteio aleatório, para serem divididas posteriormente em 6 grupos diferentes com número total de 10 repetições cada um (esta quantidade de amostras para cada grupo foi confirmada através do teste piloto). Após o sorteio, a superfície dos espécimes foi impermeabilizada com duas camadas de esmalte de unha aplicadas com 24 horas de intervalo entre elas, sendo que cada grupo recebeu uma cor diferente de esmalte, para sua posterior identificação. Seco o agente impermeabilizante, foi retirada a fita crepe e conferida a marcação das 4 áreas de 2mm cada uma, sobre a superfície de esmalte dental (Figura 1).



FIGURA 1 - Janela de 8X3mm$^2$ isolada no terço médio do dente, subdividida em 4 áreas de 2mm cada, que correspondem às regiões de esmalte que receberam os tratamentos. Acima, as marcas de orientação em forma de círculos.

Em seguida, as áreas que receberiam os tratamentos foram escolhidas arbitrariamente e os grupos nomeados de acordo as seguintes condições experimentais:

**G1**: designamos "controle sadio" as áreas 1 e 2 (esmalte sadio) e "controle+cárie" as áreas 3 e 4 (esmalte com cárie induzida). Este grupo possui apenas 5 corpos-de-prova, já que cada um deles teve duas repetições de cada condição, a fim de atingir o número pré-estabelecido de 10 repetições.

**G2**: grupo controle do laser de Er:YAG, irradiado com 4 diferentes parâmetros (um em cada área).

**G3**: grupo controle do laser de Nd:YAG, irradiado com 4 diferentes parâmetros (um em cada área).

**G4**: grupo experimental do laser de Er:YAG, irradiado com os mesmos parâmetros do **G2** e posterior indução artificial de cárie.

**G5**: grupo experimental do laser de Nd:YAG, irradiado com os mesmos parâmetros do **G3** e posterior indução artificial de cárie.

**G6**: grupo experimental desgastado com fresa diamantada nº 1012 em alta rotação. As áreas 1 e 2 só receberam desgaste com fresa, diferente das regiões 3 e 4 que após o desgaste, foram submetidas a formação de cárie artificial. Este grupo da mesma forma que o **G1**, possui 5 corpos-de-prova, já que cada um deles, teve duas repetições de cada condição, a fim de completar o número pré-estabelecido de 10 repetições.

Os parâmetros selecionados durante o experimento de acordo ao tipo de laser utilizado, estão descritos no Quadro 1.

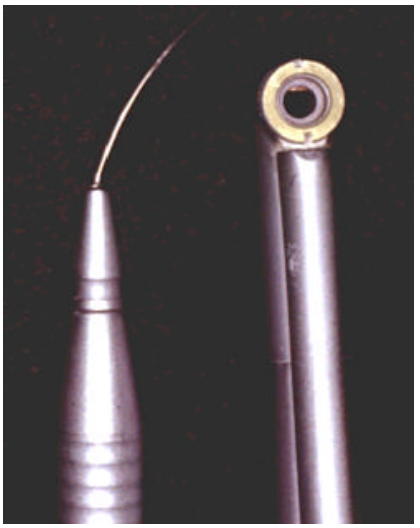
Quadro 1 – Parâmetros experimentais de acordo ao tipo de laser utilizado.

| **Grupos G2 e G4** | **Tipo de laser** | **Energia/p** | **Freqüência** | **Tempo** | **Energia Total** | **Densidade de Energia/p** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Área 1** | Er:YAG | 100 mJ | 10 Hz | 3 seg. | 3 J | 21 J/mm$^2$ |
| **Área 2** | Er:YAG | 200 mJ | 10 Hz | 3 seg. | 6 J | 43 J/mm$^2$ |
| **Área 3** | Er:YAG | 300 mJ | 10 Hz | 3 seg. | 9 J | 64 J/mm$^2$ |
| **Área 4** | Er:YAG | 400 mJ | 10 Hz | 3 seg. | 12 J | 86 J/mm$^2$ |
| **Grupos G3 e G5** | **Tipo de laser** | **Potência/p** | **Freqüência** | **Tempo** | **Energia Total** | **Densidade de Energia/p** |
| **Área 1** | Nd:YAG | 0,75 W | 10 Hz | 3 seg. | 2.25 J | 27 J/mm$^2$ |
| **Área 2** | Nd:YAG | 1 W | 10 Hz | 3 seg. | 3 J | 35 J/mm$^2$ |
| **Área 3** | Nd:YAG | 2 W | 10 Hz | 3 Seg. | 6 J | 71 J/mm$^2$ |
| **Área 4** | Nd:YAG | 3 W | 10 Hz | 3 Seg. | 9 J | 106 J/mm$^2$ |

Estes parâmetros foram escolhidos no intuito de se assemelhar ao máximo às condições de aplicação clínica que ocorrem quando realizamos preparos cavitários em esmalte e limpeza de sulcos e fissuras com laser. Sendo assim, após experimentos preliminares, definimos o tempo de 3 segundos para simular exposição acidental de esmalte aos sistemas de preparo.

Para a aplicação dos lasers que pretendemos estudar, utilizamos o aparelho *TWINLIGHT* Fotona Medical Lasers, Slovenia, cuja principal característica e possibilitar a utilização tanto do laser de Er:YAG como do Nd:YAG (Figura 2).





**A** **B**

FIGURA 2 - Aparelho *TWINLIGHT* Fotona Medical Lasers, Slovenia e pontas para laser de Nd:YAG (A) e Er:YAG (B).

As especificações e características técnicas deste aparelho estão descritas no Quadro 2.

Quadro 2 – Especificações e características do aparelho *TWINLIGHT* Fotona Medical Lasers, Slovenia.

| | ***SISTEMAS*** | |
|---|---|---|
| ***CARACTERÍSTICAS*** | ***LASER DE Er:YAG*** | ***LASER DE Nd:YAG*** |
| *MEIO ATIVO* | Cristal de ytrium-alumínio e granada dopado com Érbio | Cristal de ytrium-alumínio e granada dopado com Neodímio |
| *COMPRIMENTO DE ONDA* | 2940 nm | 1064 nm |
| *MODO DE OPERAÇÃO* | Pulsado | Pulsado |
| *LARGURA DE PULSO* | 200-400 µs | 125 -160 µs |
| *MODO DE APLICAÇÃO* | Não contato | Contato |
| *DISTANCIA FOCAL* | 12-15 mm | 0-0,5 mm |
| *ÁREA DO "SPOT"* | 0,466 $mm^2$ | 0,283$mm^2$ |
| *TRANSMISSÃO* | Braço articulado de 5 espelhos com peça de mão óptica | Fibra óptica |
| *EFEITO* | Fotomecânico | Fototérmico |

Na seqüência, com auxilio de cera utilidade e discos de pvc de 4cm de diâmetro e 0,5cm de altura, cada corpo de prova foi fixado tomando-se o cuidado de deixar a superfície a ser irradiada paralela à superfície da mesa de trabalho, com intuito de padronizar a aplicação perpendicular dos feixes de laser e simplificar os procedimentos laboratoriais.

Para a aplicação do laser de Er:YAG, o braço do aparelho foi fixado num suporte com o objetivo de permitir a irradiação padronizada a uma distância focal de 12 a 15mm perpendicular à superfície do dente (forma não-contato). Desta forma, o disco de pvc era movimentado a fim de que a área pré definida do dente fosse irradiada (Figura 3). Todo o processo foi acompanhado de sucção a vácuo.

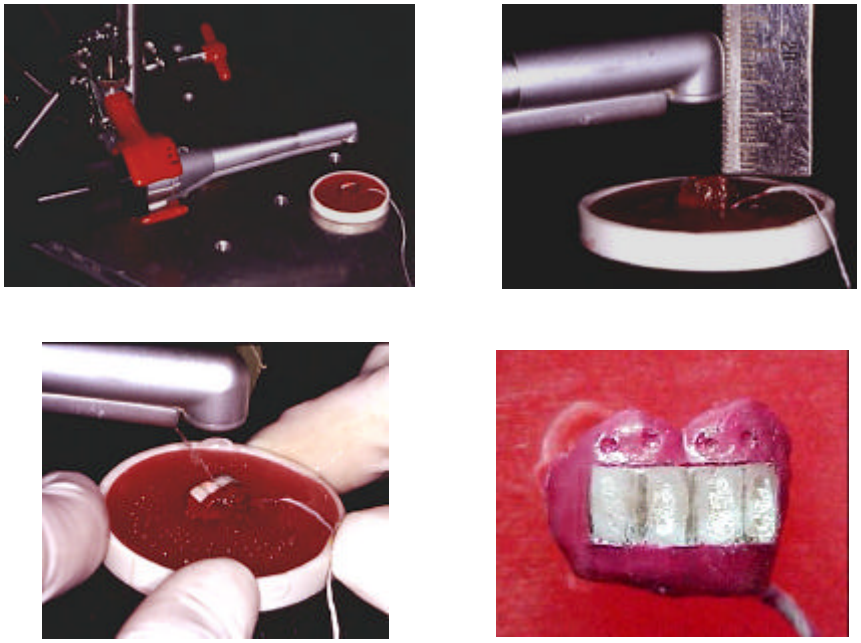


FIGURA 3 - Fixação do braço articulado do laser de Er:YAG, para padronização da irradiação a distância de 12 a 15mm (forma não contato).

Já no caso do laser de Nd:YAG, os dentes foram irradiados na forma de contato, através do posicionamento da ponta da fibra óptica perpendicular à superfície dental, acompanhado de refrigeração com jato de ar e sucção a vácuo, afim de resfriar o dente e evitar a inalação do tecido dental vaporizado (Figura 4). Tomou-se o cuidado de sempre clivar a ponta da fibra óptica, para evitar que a parte queimada durante a irradiação, interferi-se com a seguinte aplicação.



FIGURA 4 - Irradiação padronizada com laser de Nd:YAG, a distância de 0 a 0,5mm (forma contato).

Dessa forma, cada amostra foi irradiada com os 4 parâmetros escolhidos de cada laser, dentro da área pré estabelecida.

É necessário ressaltar que durante a utilização de ambos lasers, foram tomadas as medidas de proteção pertinentes, tanto para o operador como para a assistente, utilizando óculos e máscara dupla.

No caso do **G6** as amostras foram desgastadas com fresa esférica diamantada nº 1012 em alta rotação, colocando-a em contato com a superfície do esmalte numa posição de $45^0$ e realizando movimento de deslizamento, a fresa penetrou um terço do seu diâmetro (Figura 5).

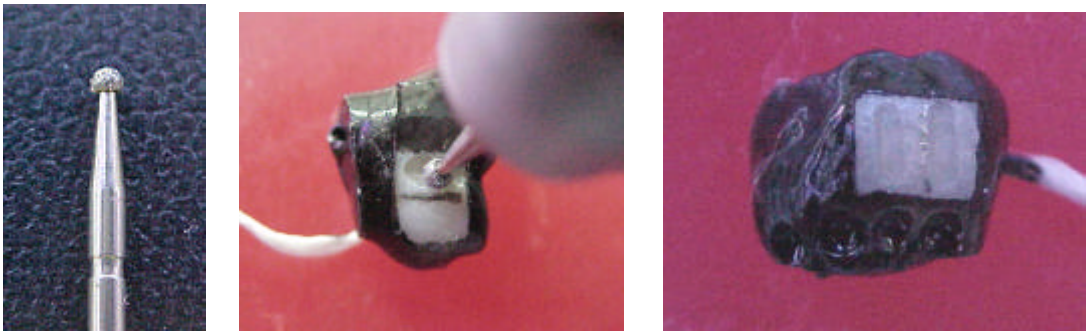


FIGURA 5 - Desgaste com fresa diamantada nº 1012 (KG Sorensen) em alta rotação, em angulo de $45^0$ com a superfície do dente.

Neste grupo, o desgaste foi realizado primeiro nas regiões 3 e 4, sendo que as regiões 1 e 2, ficaram protegidas com agente impermeabilizante e só após concluída a formação de cárie, as regiões 1 e 2 foram desgastadas por fresa diamantada. A mesma situação se realizou no **G1** com a diferença que este último não recebeu desgaste por fresa.

Após a irradiação ou desgaste por fresa, as amostras dos grupos **G4**, **G5** e **G6** foram retiradas dos discos de pvc, limpas e imediatamente submetias ao processo dinâmico de desmineralização/ remineralização (DES/RE), para indução artificial de cárie. Da mesma forma o grupo **G1** foi submetido ao processo DES/RE.

***Indução de lesão tipo cárie***

Existem muitos métodos utilizados para formação de cárie artificial, entre os quais o mais simples é o uso de soluções ácidas, que podem ou não ter conteúdos de cálcio e fósforo. Não obstante, esses métodos tendem a produzir superfícies erosionadas ou lesões muito superficiais; e quando é desejado obter lesões subsuperficiais, utiliza-se um ácido gel. [14,36,38] Contudo esses modelos estáticos de produção de lesões artificiais de cárie, não simulam situações "*in vivo*". Além disto, impedem a avaliação da estabilidade química na região remineralizada. [11,36]

No nosso estudo foi utilizado o Modelo Dinâmico de Ciclagens de Desmineralização e Remineralização, para a indução artificial das lesões de cárie proposto por Featherstone et al.[8] em 1986 e modificado por Cury[36] em 1992, já que a cárie dental representa um processo alternado de desmineralização e remineralização que são condições que mantém o pH crítico

na boca. Este modelo utilizado simula condições "*in vivo*" de um paciente de alto risco a cárie.

As amostras foram submetidas a 7 ciclos de pH, sendo que, cada ciclo consiste na imersão individual do espécime em frasco Erlenmeyer (125ml) contendo 38ml de solução desmineralizante (DES) durante 6 horas, lavagem em água dionizada por 10 segundos e imersão em frasco com 38ml de solução remineralizante (RE) por 18 horas.

Todo ciclo foi realizado a temperatura constante de 37º ± 1 ºC. Para tal, os frascos contendo as soluções e os corpos de prova foram posicionados sobre uma mesa agitadora (Agitador Nova Técnica- Nova Técnica Equipamentos para Laboratório- Modelo NT 145-Nº 950.945) mantida no interior de uma estufa, a qual estão acoplados um termostato, um termômetro e lâmpadas incandescentes. A calibragem do termostato é feita de modo que as lâmpadas sejam acessas toda vez que a temperatura chegar abaixo de 36ºC e apagadas quando esta chegar acima de 38ºC a fim de manter a temperatura nos limites pré estabelecidos (Figura 6).



FIGURA 6 - Mesa agitadora Nova Técnica- Nova Técnica Equipamentos para Laboratório- Modelo NT 145-Nº 950.945.

A composição das soluções utilizadas é: *Solução Desmineralizante*, 2.0mmol de Cálcio, 2,0mmol de Fósforo, numa solução tampão de 75mmol de acetato a pH de 4,3. *Solução Remineralizante*, 1,5mmol de Cálcio, 0,9mmol de Fósforo numa solução de 0,1mmol de tampão TRIS a pH 7,0.

Após completar o período de Des/Re, cada grupo de amostras foi lavado, seco e montado em resina poliéster (automotiva - Anjo), sobre discos de pvc, com o objetivo de facilitar a sua posterior análise no Microscópio Eletrônico de Varredura.

***Análise da morfologia e proporção Ca/P***

No intuito de reconhecer as características morfológicas e analisar a proporção Ca/P do esmalte irradiado por laser ou desgastado por fresa e exposto ou não a alto desafio cariogênico, todos os espécimes foram inicialmente desidratados em um dessecador a vácuo durante 15 minutos para a remoção completa de toda umidade contida em seu interior. Na seqüência, foram metalizados com uma fina camada de ouro e submetidos a analise morfológica das superfícies através do Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol JSM-T330 A) e a microanálise da composição química (proporção Ca/P) através de dispersão de energia de raios-X (EDX), com auxílio do mesmo aparelho (Figura 7).



FIGURA 7 - Desidratação a vácuo e metalização com ouro das amostras.

Os resultados do aspecto morfológico foram analisados de forma descritiva através de fotomicrografias de esmalte dental, a fim de observar o efeito da simulação do dano acidental causado por fresa e pelos lasers de Er:YAG e Nd:YAG, nas condições de alto desafio cariogênico ou não, tomando-se como parâmetro as fotografias do grupo **G1** e a descrição morfológica referida na literatura pertinente.

A espectrometria de raios-X por dispersão de energia (EDX - energy dispersive spectroscopy) pode ser realizada tanto de forma qualitativa como quantitativa.

A análise química *qualitativa*, é realizada através de um detetor acoplado ao microscópio eletrônico de varredura, permitindo que elementos microestruturais das amostras sejam identificados. Esta análise é feita da seguinte maneira: parte dos elétrons incidentes penetram na amostra podendo chegar a 3 μm de profundidade em amostras metálicas. Devido a sua alta energia a interação existente entre feixe e amostra é suficiente para produzir raios-X. Cada elemento presente nessa região interage diferentemente com o feixe, de forma a gerar raios-X com energias características para cada elemento.

Para a captação dos raios-X gerados, um detetor específico é posicionado no interior da câmara do microscópio eletrônico de varredura. O resultado é fornecido em forma de gráficos contendo picos de intensidade para cada elemento presente nas amostras analisadas, sendo que a altura dos picos são proporcionais à concentração do respectivo elemento.

Em nossa pesquisa foi realizada a análise de contagem de pulsos de raios X através do programa software ZAF existente num microcomputador acoplado ao microscópio eletrônico de varredura, com o objetivo de determinar *quantitativamente* características composicionais da região analisada (% de átomos de Ca e P).

Este programa, faz a leitura dos elementos presentes e a normalização dos dados, a partir do primeiro elemento programado no microscópio, que em nosso caso foi o Ca, ou seja, após reconhecer o conteúdo do Ca, o valor restante é atribuído ao P, e toma como o 100% o conteúdo destes elementos detectados.

A espectrometria de raios-X por dispersão de energia, apresenta algumas limitações como por exemplo, a impossibilidade de detectar elementos presentes em concentrações abaixo de 5%, bem como pequenas diferenças de composição.

Levando em consideração que no processo de desmineralização os principais componentes que sofrem dissolução são o Ca e P,[7] acreditamos que o fato dos demais elementos constituintes do esmalte não serem detectados por este teste, não interfere em nossos resultados, devido a pouca importância destes no processo de desmineralização e remineralização.

Sendo assim, tomamos a proporção Ca/P como referência para avaliar a resistência à cárie de cada região estudada.

Desta forma, os resultados da proporção Ca/P do esmalte, obtidos através de valores numéricos fornecidos pelo aparelho, foram analisados de forma *quantitativa* através de testes estatísticos.

A continuação realizamos um esquema da seqüência de todo o experimento (Figura 8).

Figura 8. Seqüência do experimento.

# Resultado

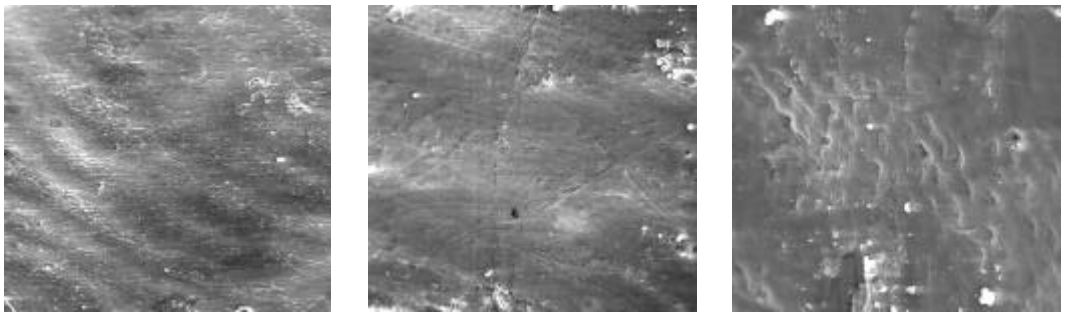
Para um melhor entendimento dos resultados, aconselha-se abrir o resumo dos grupos experimentais, disponível no Quadro A1 dos anexos.

### *Análise da morfologia do esmalte*

Quanto à morfologia do esmalte, nas áreas 1 e 2 do grupo **G1** (controle sadio), as fotomicrografías independente do aumento, revelam uma aparência lisa e contínua do esmalte, com ausência de trincas e apenas pequenas ondulações na superfície (Estrias de Retzius ou Periquimácias),[16] decorrente da própria anatomia do esmalte (Figura 9).

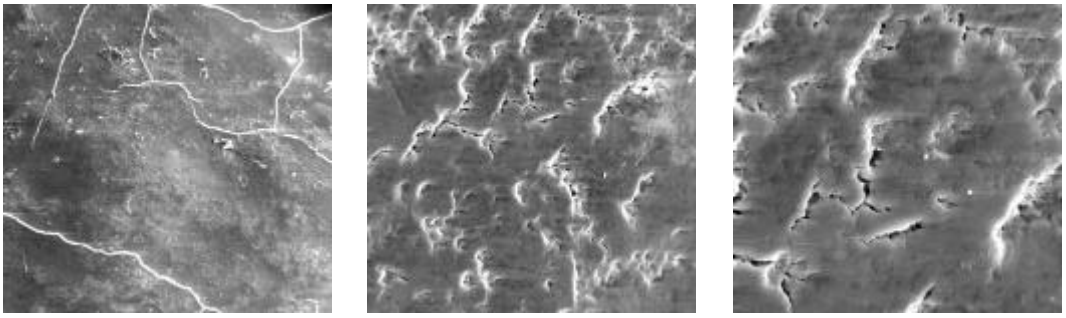
Já nas áreas 3 e 4 do mesmo grupo onde as amostras foram submetidas a formação de cárie artificial (controle+cárie), observamos o esmalte das amostras com superfície irregular, presença de pequenas erosões de aspecto esbranquiçado, provocado pelo ataque de cárie, coincidindo com os aspectos de dentes submetidos a desmineralização *in vitro*, descritos na literatura.[16] Este padrão de desmineralização não foi característico em todas as amostras submetidas a desafio cariogênico. Se observou em algumas delas que não houve mudança aparente na superfície, provavelmente isto tenha ocorrido devido à variação na composição, anatomia e irregularidade do esmalte de alguns dentes que pode ocorrer inclusive entre regiões diferentes do mesmo dente.[6] Estas variações possivelmente favorecem a penetração de ácidos, provocando dessa forma, uma desmineralização irregular na superfície. Além disso, levando em consideração que os dentes utilizados para este trabalho não provinham de um único indivíduo, é normal que encontremos tais diferencias que

são mais acentuadas em alguns elementos e menos visíveis em outros (Figura 10).



**100x** **500x** **1000x**

FIGURA 9 - Fotomicrografias das regiões 1 e 2 (controle sadio) do grupo **G1**, em aumentos de 100x, 500x e 1000x.



**100x** **500x** **1000x**

FIGURA 10 - Fotomicrografias das regiões 3 e 4 (controle+cárie) do grupo **G1**, em aumentos de 100x, 500x e 1000x.

No grupo **G2**, onde as amostras foram irradiadas por laser de Er:YAG com diferentes energias por pulso (100mJ/ 10Hz/ 3seg./ 21J/cm$^2$ ; 200mJ/ 10Hz/ 3seg./ 43J/cm$^2$ ; 300mJ/ 10Hz/ 3seg./ 64J/cm$^2$ ; ou 400mJ/ 10 Hz/ 3seg./ 86J/cm$^2$), observamos que o esmalte irradiado apresenta-se em forma de uma única cratera, com bordas e superfície interna bastante irregulares, com limites definidos, de aspecto escamoso, na qual evidencia-se a manutenção da morfologia normal dos prismas de esmalte. Estas características se intensificam a medida que a energia utilizada foi aumentando de 100 a 400mJ. Nos aumentos de 500 e 1000x é possível distinguir claramente os espaços deixados pelos prismas de esmalte durante as microexplosões causadas pelo processo fotomecânico de ablação, sendo que quanto maior a energia utilizada, mais agudas se apresentam as projeções de esmalte (Figura 11).

No grupo **G3**, o esmalte foi irradiado por laser de Nd:YAG com diferentes potências por pulso (0,75W/ 10Hz/ 3seg./27J/cm$^2$ ; 1W/ 10Hz/ 3seg./ 35J/cm$^2$ ; 2W/ 10Hz/ 3seg./ 71J/cm$^2$ ; ou 3W/ 10 Hz/ 3 seg./ 106J/cm$^2$). Ao utilizar potências de 0,75W e 1W podemos observar que houve leve fusão e resolidificação da superfície do esmalte, provocando trincas e pequenas crateras rasas, deixando o esmalte irregular e descontínuo (Figura 12).

Já quando utilizadas potências de 2 e 3W, as características de fusão são mais intensas, em função do aumento da potência, deixando a superfície muito mais irregular, com crateras de maior tamanho, bordas elevadas dando a aparência de "*lava vulcânica* ", com trincas em toda sua extensão (Figura 12).

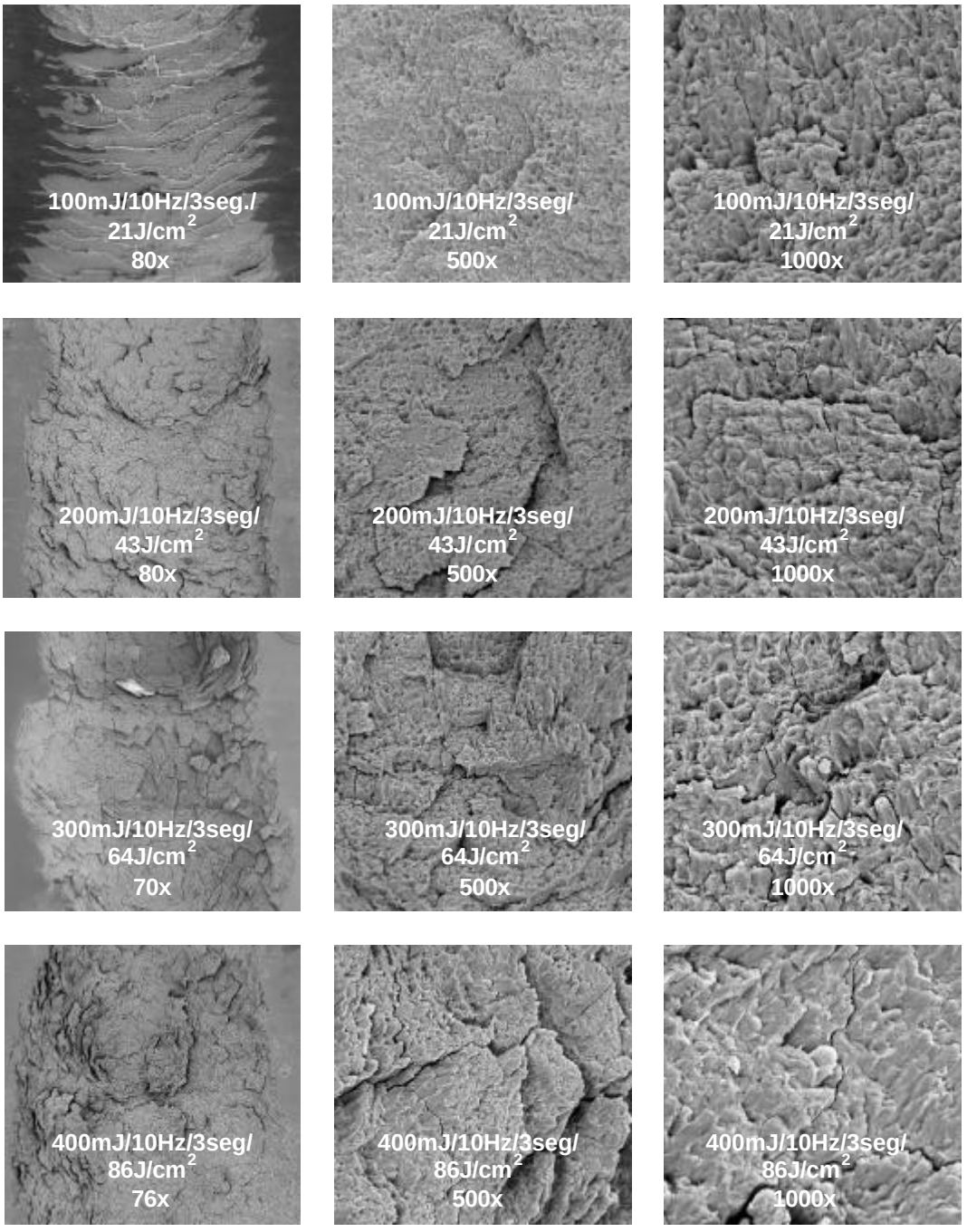



FIGURA 11 - Fotomicrografias do gupo **G2** em aumentos de 70-80x, 500x e 1000x, irradiadas por laser de Er:YAG com parâmetros de 100, 200, 300 e 400mJ / 10Hz / 3 segundos.

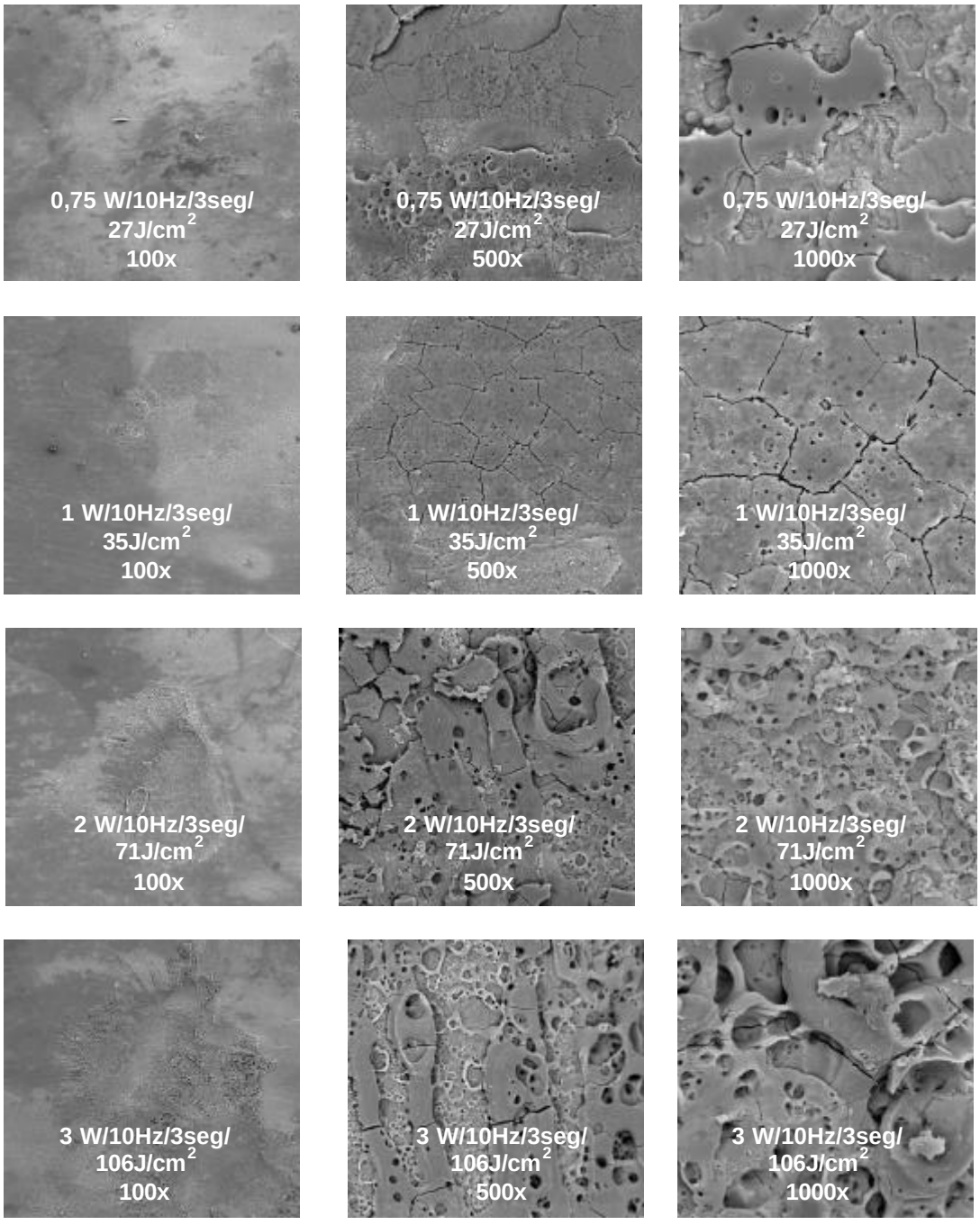



FIGURA 12 - Fotomicrografias do grupo **G3** em aumentos de 100x, 500x e 1000x, irradiadas por laser de Nd:YAG com parâmetros de 0,75, 1, 2 e 3W / 10Hz / 3 segundos.

No grupo **G4** onde, após à irradiação com laser de Er:YAG as amostras foram submetidas a formação de cárie artificial, observamos uma leve diminuição da aparência escamosa das superfícies quando comparado com o grupo **G2**, indicando claramente perda mineral. O aumento do aspecto esbranquiçado observado em toda a superfície analisada e de forma mais evidente nas bordas das projeções do esmalte, confirma esta hipótese (Figura 13). No aumento de 500x com exposição a 100mJ de energia, observamos aumento no diâmetro dos poros do esmalte quando comparado com a fotomicrografia no mesmo aumento do grupo **G2**, semelhante ao aspecto do esmalte condicionado com ácido fosfórico, também evidenciando perda mineral (Figura 13).

No grupo **G5**, onde as amostras foram submetidas a desafio cariogênico após irradiação com laser de Nd:YAG, observamos em todas as fotos, evidência clara de desmineralização quando comparadas as do grupo **G3**, uma vez que todas as superfícies mostram áreas esbranquiçadas, diminuição da elevação das bordas, dando aparência que houve dissolução e perda da camada superficial resolidificada de esmalte, como conseqüência da exposição ao modelo dinâmico de cárie (Figura 14). Em algumas regiões se observa também acúmulo de depósitos sobre a superfície do esmalte resolidificado, provavelmente provenientes da solução remineralizante ou até de substancias perdidas do próprio dente (Ca) durante o processo de desmineralização, que foram ré-depositadas (Figura 14).

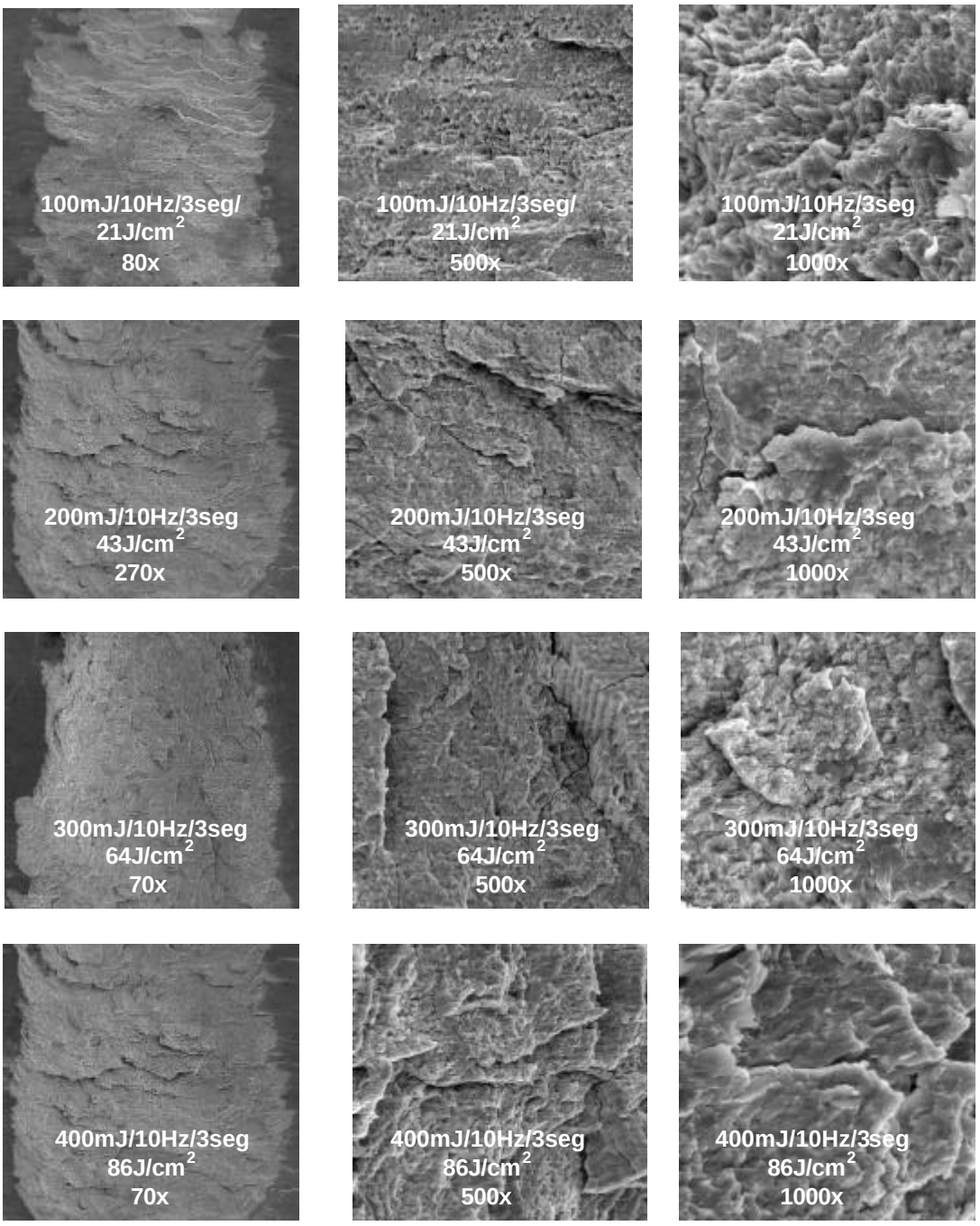



FIGURA 13 - Fotomicrografias do grupo **G4** em aumentos de 100x, 500x e 1000x, irradiadas por laser de Er:YAG com mesmos parâmetros do grupo **G2**, e posteriormente submetidos a DES/RE.

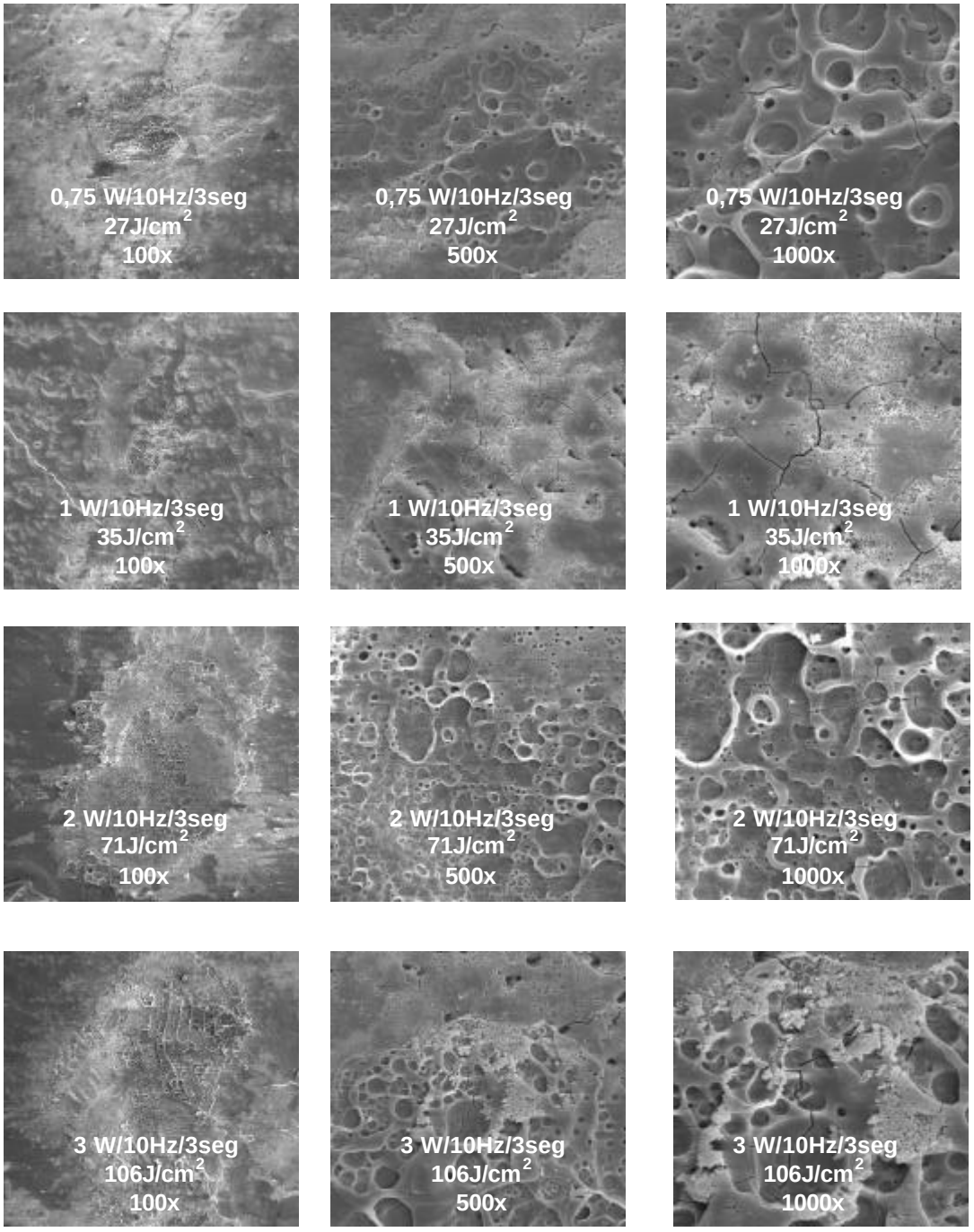
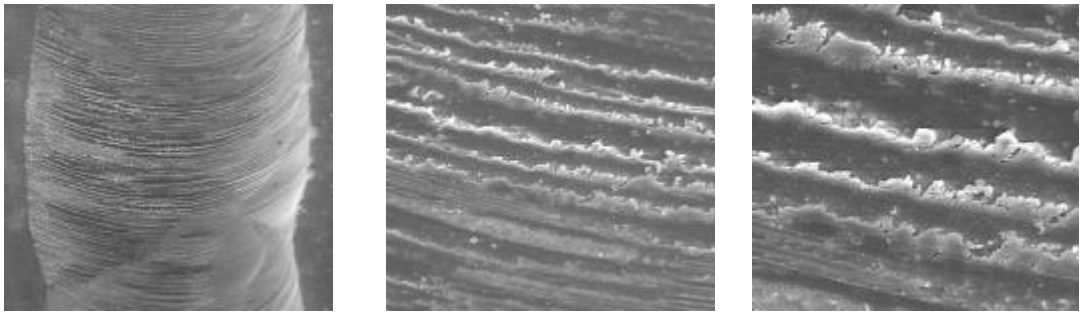



FIGURA 14 - Fotomicrografias do grupo **G5** em aumentos de 100x, 500x e 1000x, irradiadas por laser de Nd:YAG com mesmos parâmetros do grupo **G3**, e posteriormente submetidos a DES/RE.

No grupo **G6**, onde as amostras foram submetidas a desgaste por fresa diamantada, observamos nas áreas 1 e 2, uma região sulcada, livre de trincas, características da ação das partículas de diamantes sobre o esmalte. Num maior aumento, se observam estrias associadas a acúmulo de detritos de esmalte, intercaladas por espaços planos, lisos e limpos (Figura 15).

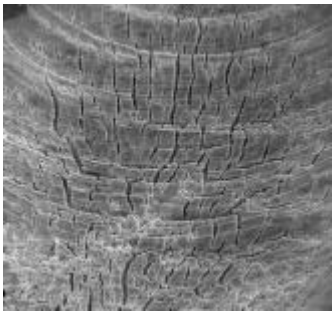


**80x** **500x** **1000x**

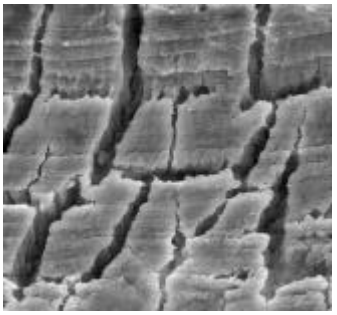
FIGURA 15 - Fotomicrografias das regiões 1 e 2 (fresa sadio) do grupo **G6** em aumentos de 80x, 500x e 100x.

Nas áreas 3 e 4 nas quais o esmalte danificado pela fresa diamantada foi submetido a desafio cariogênico, observamos múltiplas trincas, sendo algumas delas bastante amplas e profundas, com bordas de aspecto esbranquiçado e com ausência dos restos de detritos de esmalte (Figura 16).

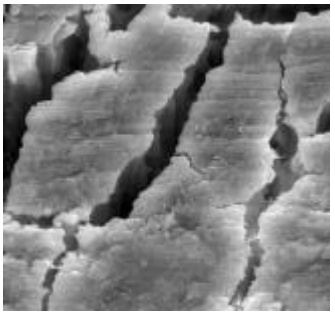
Este padrão de trincas observadas somente neste grupo, provavelmente representa a ação do impacto em alta rotação dos grãos de diamantes contra a superfície do esmalte dental.



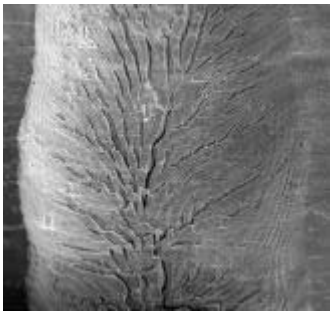
**100x**



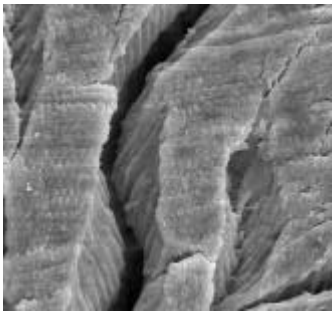
**500x**



**1000x**



**56x**



**500x**

FIGURA 16 - Fotomicrografias das regiões 3 e 4 do grupo **G6** em aumentos de 56x, 100x, 500x e 1000x.

### *Análise da Proporção Ca/P*

Os valores de Ca, P e proporções Ca/P de todos os grupos, se encontram descritos nas Tabelas A1, A2, A3 e A4 dos Anexos.

Com a finalidade de avaliar individualmente as médias aritméticas das proporções Ca/P, foram constituídos intervalos de 95% de confiança para a média populacional, a fim de permitir-nos prever com 95% de confiança, as proporções que verdadeiramente representam cada fenômeno em estudo. Na Tabela A5 dos Anexos são apresentadas as médias aritméticas das proporções Ca/P relativas aos diversos tratamentos deste estudo, juntamente com o desvio padrão, o limite inferior (LI) e o limite superior (LS) do intervalo de confiança para a média populacional.

No Gráfico 1 onde estão representadas as médias e intervalos a 95% de confiança das proporções Ca/P dos grupos **G1, G2** e **G4**, podemos observar que houve diminuição da proporção Ca/P em ambos os grupos do laser de Er:YAG após os tratamentos recebidos, quando comparados com o controle sadio do grupo **G1**. Tanto antes ou após a formação de cárie artificial, se observa a tendência a uma diminuição menor da proporção Ca/P quando utilizada uma energia de 100mJ. A partir da irradiação com energias de 200, 300 e 400mJ, se observa uma queda um pouco maior, mas que tende a diminuir após o desafio cariogênico, a medida que aumenta a energia.

Observamos também que a maior tendência à perda mineral de todos os tratamentos, se encontra no controle+cárie do grupo **G1**.

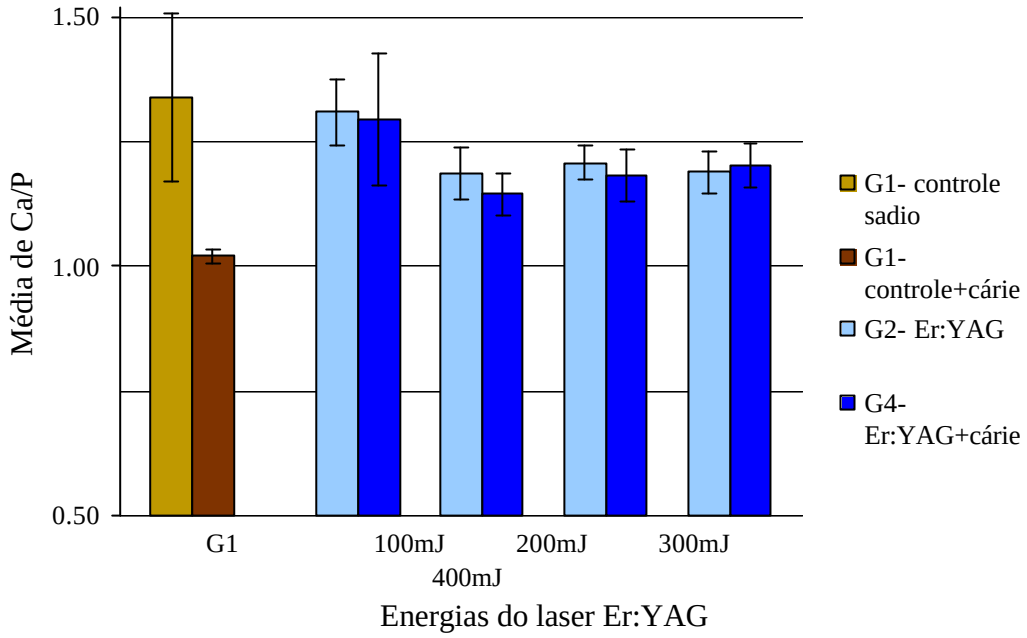



Gráfico 1 - Médias e intervalos a 95% de confiança das proporções Ca/P, para os grupos **G1, G2** e **G4**.

Da mesma forma, no Gráfico 2 onde estão representadas as médias e intervalos a 95% de confiança das proporções Ca/P dos grupos **G1, G3** e **G5**, observamos nos grupos do Nd:YAG quando comparados com o controle sadio do grupo **G1**, que houve uma diminuição na proporção Ca/P na maioria dos casos após as irradiação, que tende a ser mais intensa após a formação de cárie, a medida que aumenta a potência. Este fato difere exclusivamente na potência de 0,75W já que, no grupo **G3** manteve o conteúdo mineral, e após ser submetido a formação de cárie (**G5**), se observa um aumento da proporção

Ca/P. Da mesma maneira que nos grupos do Er:YAG, a maior tendência a perda mineral se encontra no controle+cárie do grupo **G1**.

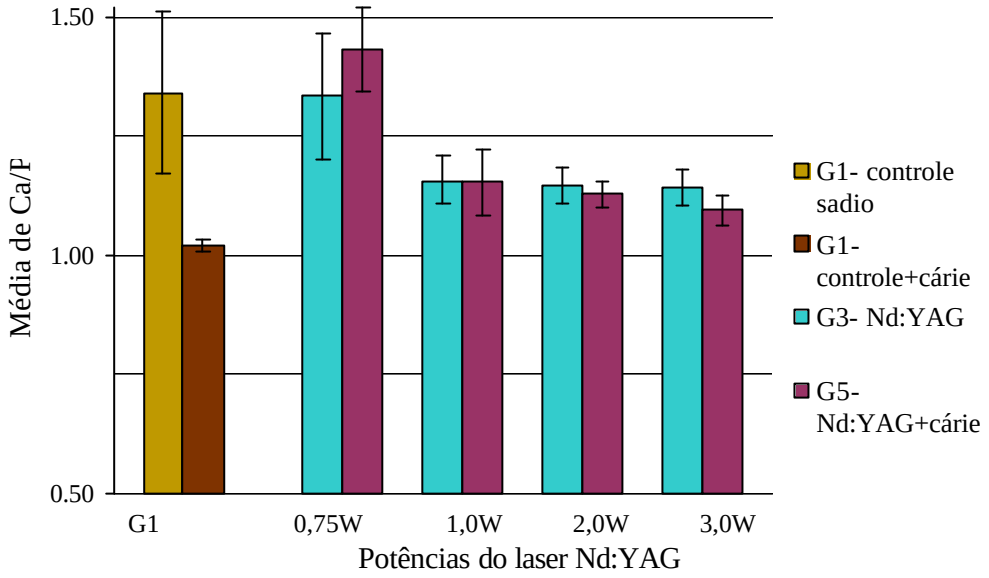



Gráfico 2 - Médias e intervalos a 95% de confiança das proporções Ca/P, para os grupos **G1, G3** e **G5**.

No Gráfico 3, onde estão representadas as médias e intervalos a 95% de confiança das proporções Ca/P dos grupos **G1** e **G6**, observamos que o simples fato de danificar com fresa a superfície do esmalte, representa uma queda na proporção Ca/P, mas que se mantém após a formação da cárie, quando comparado com o controle sadio do grupo **G1**. Já quando comparado com o controle+cárie, observamos que essa diminuição tende a ser menos intensa.

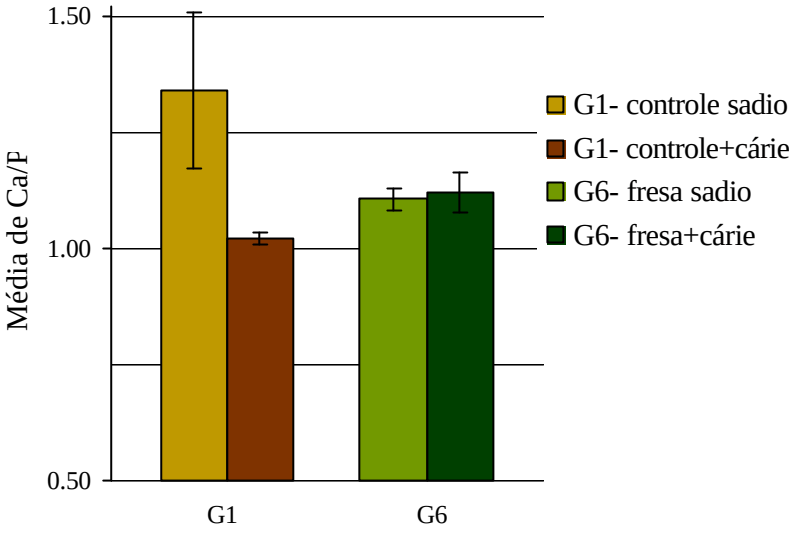



Gráfico 3 - Médias e intervalos a 95% de confiança das proporções Ca/P, para os grupos **G1** e **G6**.

Todos estes resultados explanados anteriormente, se referem às tendências à diminuição ou aumento nas proporções Ca/P, visualizados através da observação dos Gráficos 1, 2 e 3 onde estão representadas as médias e intervalos a 95% de confiança, de todos os tratamentos realizados neste experimento. Isto não significa que existam diferenças estatísticas entre os grupos. Para avaliar tais fatos, realizamos os testes descritos a seguir.

### *Análise estatística da proporção Ca/P*

Os resultados das proporções Ca/P, descritos nas Tabelas A1,A2, A3 e A4 dos Anexos, indicam que esses valores apresentaram uma grande variabilidade em alguns casos, indicando portanto uma falta de homogeneidade das variâncias e consequentemente dos desvios padrão. Isto foi confirmado através do teste estatístico de Levene em um nível de significância menor do que 1%.

Por essa razão optou-se pelo emprego do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para a análise estatística dos efeitos dos lasers e fresa, através das proporções cálcio e fósforo (Ca/P).

Esta análise estatística foi efetuada separadamente para cada tipo de laser (**G2** e **G4**), (**G3** e **G5**) e fresa diamantada (**G6**), comparando-o com o grupo **G1**. Foram utilizados os postos médios das proporções Ca/P, calculados como sendo a média aritmética das posições obtidas pelas proporções constituintes de um tratamento, quando todos os dados são classificados em ordem crescente. Este teste não pressupõe que os dados tenham distribuição normal ou que haja homogeneidade de variância, a qual, no presente trabalho não pode ser comprovada. Adotou-se o nível de 5% de significância para decidir se há ou não diferença significativa entre postos médios.

Quando o teste de Kruskal-Wallis indicou alguma diferença significativa entre postos médios, aplicou-se um procedimento de comparação múltipla da literatura[2] para identificar tratamentos com efeitos distintos. Apesar do nível de significância de trabalho ter sido o de 5%, procurou-se destacar os casos em que houve também significância em um nível menor ou igual a 1%.

Quando realizada a comparação conjunta das proporções de Ca/P relativas ao laser de Er:YAG, considerando-se os grupos **G1**, **G2** e **G4** obteve-se um valor da estatística H de Kruskal-Wallis igual a 61,8, o qual corresponde, pela distribuição de qui-quadrado, um valor de probabilidade *p* menor do que 0,0001, portanto, altamente significativo. Então, há pelo menos dois postos médios relativos à razão Ca/P significativamente diferentes. As comparações múltiplas para identificar os postos médios significativamente diferentes são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparações múltiplas de postos médios relativos aos grupos **G1**, **G2** e **G4**.

| Grupo | Tratamento | | posto médio | Tratamento | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | {1} | {2} | {3} | {4} | {5} | {6} | {7} | {8} | {9} |
| G1 | Controle sadio | {1} | 66,1 | | | | | | | | | |
| | Controle+cárie | {2} | 5,7 | ** | | | | | | | | |
| G2 | 100mJ | {3} | 77,2 | ns | ** | | | | | | | |
| | 200mJ | {4} | 45,7 | ns | ** | * | | | | | | |
| | 300mJ | {5} | 55,0 | ns | ** | ns | ns | | | | | |
| | 400mJ | {6} | 48,2 | ns | ** | * | ns | ns | | | | |
| G4 | 100mJ | {7} | 67,6 | ns | ** | ns | ns | ns | ns | | | |
| | 200mJ | {8} | 33,1 | * | * | ** | ns | ns | ns | * | | |
| | 300mJ | {9} | 44,2 | ns | ** | * | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | 400mJ | {10} | 51,7 | ns | ** | * | ns | ns | ns | ns | ns | ns |

(*) significativo a um nível entre 0,01 e 0,05 ($0,01<p\leq0,05$)

(**) significativo a um nível menor do que 0,01 ($p\leq0,01$)

(ns) não significativo

Pela Tabela 1, observa-se que, no grupo **G1**, há diferença significante entre o controle sadio e o controle+cárie. Já no grupo **G2**, quando comparado com o controle sadio, não há diferenças significantes entre eles. Da mesma forma acontece no grupo **G4**, a exceção da energia de 200mJ onde o posto médio foi significantemente menor. Ao se comparar ambos grupos de Er:YAG com o controle+cárie do grupo **G1**, observamos que todos os postos médios foram significantemente diferentes. Este fato pode-se visualizar no Gráfico A1 dos anexos.

Quando se analisam as diferenças entre cada energia antes e após a formação de cárie, os postos médios não revelam diferenças significantes entre elas, coincidindo com o exposto anteriormente da tendência a se manter a proporção Ca/P das áreas irradiadas com Er:YAG após o desafio cariogênico, quando da análise de médias.

Quando realizada a comparação conjunta das proporções de Ca/P relativas ao laser de Nd:YAG, considerando-se os grupos **G1**, **G3** e **G5**, obteve-se um valor da estatística de Kruskal-Wallis igual a 61,6, o qual corresponde, pela distribuição de qui-quadrado, um valor de probabilidade *p* menor do que 0,0001, altamente significativo. As comparações múltiplas para identificar os postos médios significativamente diferentes são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparações múltiplas de postos médios relativos aos grupos **G1**, **G3** e **G5**.

| Grupo | Tratamento | | posto médio | Tratamento | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | {1} | {2} | {3} | {4} | {5} | {6} | {7} | {8} | {9} |
| G1 | Controle sadio | {1} | 69,8 | | | | | | | | | |
| | Controle+cárie | {2} | 7,1 | ** | | | | | | | | |
| G3 | 0,75W | {3} | 73,2 | ns | ** | | | | | | | |
| | 1,0W | {4} | 47,5 | ns | ** | * | | | | | | |
| | 2,0W | {5} | 46,7 | ns | ** | * | ns | | | | | |
| | 3,0W | {6} | 45,7 | ns | ** | * | ns | ns | | | | |
| G5 | 0,75W | {7} | 85,3 | ns | ** | ns | ** | ** | ** | | | |
| | 1,0W | {8} | 46,4 | ns | ** | * | ns | ns | ns | ** | | |
| | 2,0W | {9} | 41,0 | * | ** | * | ns | ns | ns | ** | ns | |
| | 3,0W | {10} | 29,5 | ** | ns | ** | ns | ns | ns | ** | ns | ns |

(*) significativo a um nível entre 0,01 e 0,05 ($0,01<p\leq0,05$)

(**) significativo a um nível menor do que 0,01 ($p\leq0,01$)

(ns) não significativo

Pela Tabela 2 observa-se que, da mesma forma que na análise anterior, as duas condições do grupo **G1**, são estatisticamente diferentes. Agora, quando se comparam os postos médios do grupo **G3** com os do controle sadio do **G1**, não há diferenças estatisticamente significantes entre eles. Este fato também foi observado no grupo **G5**, a exceção das potências de 2 e 3W onde os postos médios foram significantemente menores. Isto pode-se visualizar no Gráfico A2 do Anexos.

Já quando se analisam os postos médios do controle+cárie do **G1** e os de ambos grupos do Nd:YAG, observamos que o controle+cárie foi estatisticamente menor do que todos os outros tratamentos.

Quando realizada a comparação conjunta das proporções de Ca/P relativas ao grupo de fresa diamantada, considerando-se os grupos **G1** e **G6**, obteve-se um valor da estatística de Kruskal-Wallis igual a 27,2 ao qual corresponde, pela distribuição de qui-quadrado, um valor de probabilidade *p* menor do que 0,0001, altamente significativo. As comparações múltiplas para identificar os postos médios significativamente diferentes são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Comparações múltiplas de postos médios relativos aos grupos **G1** e **G6**.

| Grupo | Tratamento | posto médio | Tratamento | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | {1} | {2} | {3} |
| G1 | Controle sadio {1} | 30,9 | | | |
| | Controle+cárie {2} | 5,8 | ** | | |
| G6 | fresa {3} | 19,4 | * | ** | |
| | fresa+cárie {4} | 21,3 | * | ** | ns |

(*) significativo a um nível entre 0,01 e 0,05 (0,01<p≤0,05)

(**) significativo a um nível menor do que 0,01 (p≤0,01)

(ns) não significativo

Na Tabela 3, quando comparamos os postos médios do grupo **G6**, tanto antes ou depois da formação de cárie, com as duas condições do grupo **G1**, observamos que os postos médios foram significantemente diferentes entre eles, sendo o controle+cárie do grupo **G1** menor do que todos.

Já quando são confrontadas as condições de fresa sadio e fresa+cárie, não se observam diferenças estatisticamente significantes, indicando que a proporção Ca/P do esmalte quando danificado com fresa diamantada, se mantém após a formação de cárie. Estas situações podem-se visualizar no Gráfico A3 dos Anexos.

## Discussão

Quando um dente é submetido a algum tipo de preparo cavitário, seja de forma convencional (fresa) ou com irradiação por lasers, temos observado clinicamente que existe o risco de ocorrer dano acidental às superfícies dentais adjacentes do próprio dente ou até de dentes vizinhos, devido as dificuldades inerente ao trabalho dentro da cavidade bucal, principalmente durante a confecção de cavidades complexas nos dentes posteriores, onde o acesso restrito, visão indireta, presença de saliva e deficiências de iluminação, favorecem este tipo de acidentes.

Após levantamento bibliográfico realizado, observamos que esta ocorrência não tem sido analisada na literatura.

Sabemos que durante os cursos de graduação, os acadêmicos são orientados a proteger os dentes vizinhos com uma matriz metálica, a fim de evitar danos acidentais aos dentes adjacentes quando realizam cavidades de classe II ou preparos protéticos. No entanto, baseados em nossa experiência didática e segundo relatos de professores mais experientes, notamos uma tendência de abandonar este procedimento de proteção, a medida que o aluno vai adquirindo experiência clínica.

Mais grave ainda é a postura de ignorar os acidentes quando estes ocorrem, uma vez que não existem recomendações nem protocolos de prevenção formalizados na literatura, porque até o momento, a freqüência destes acidentes não foi considerada fato importante pela comunidade científica e acadêmica.

Hipoteticamente, acreditamos que um dente danificado involuntariamente poderia mostrar-se mais susceptível à formação de cárie que o esmalte íntegro, nas mesmas condições de cariogênicidade.

Alguns autores tem demonstrado que o uso dos lasers, em especial o de Nd:YAG, pode aumentar a resistência do esmalte aos ácidos, devido à fusão e resolidificação do esmalte, e a conseqüente alteração na composição superficial do mesmo.

A estrutura do esmalte e sua química tem sido objeto de muitas pesquisas, no entanto, vários aspectos da sua estrutura ainda não estão esclarecidos e muitos dados obtidos permanecem sem interpretação.[6]

É conhecido que o esmalte dental é um sistema altamente mineralizado. Mais de 95% da massa do esmalte é representado por material inorgânico, a maior parte do qual, se não todo, no estado cristalino, e quando maduro é acelular e praticamente desprovido de material orgânico.[6]

O esmalte dental é um sistema químico ativo que participa de uma série de reações, incluindo o transporte de substancias e íons da saliva para a dentina, reações de troca de íons com a saliva que ocorrem inclusive, nos processos de desmineralização e remineralização, que caracteriza a cárie dental.[6]

As análises químicas indicam que este, tem composição extremamente complexa. Para a hidroxiapatita pura $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ a relação molar Ca/P é de 1,67, mas freqüentemente os conteúdos de cálcio e fósforo do esmalte são menores do que aqueles encontrados nas apatitas puras de fosfato de cálcio, o que caracteriza a apatita do esmalte como "deficiente em cálcio". A variação na composição monovalente dos ânions não afeta a relação molar Ca/P, mas a

substituição de outro cátion divalente por cálcio, a diminuem. Enquanto a massa principal do conteúdo de fósforo no esmalte é devida à presença do íon fosfato trivalente, o conteúdo do íon fosfato divalente mono-hidrogênio $H_3PO_4^{-2}$, no esmalte humano hígido, é cerca de 5% em peso. É por isso que as necessidades de equilíbrio de carga como resultado dessa substituição são, pelo menos em parte, responsáveis por uma relação Ca/P menor que a ideal no esmalte.[6]

Segundo Einspahr & Bugg,[6] a composição química do esmalte varia muito de indivíduo para indivíduo, de dente para dente e mostra mesmo variações dentro de um único dente e dentro de uma dada porção de esmalte.

Os resultados da nossa pesquisa concordam com esta teoria, já que ao analisar o esmalte no grupo **G1**, no controle sadio, observamos muita variabilidade entre os valores de proporção Ca/P, tanto de dente para dente, bem como, em diferentes regiões no mesmo dente.

Segundo Einspahr & Bugg,[6] a concentração dos componentes do esmalte varia conforme à distância da superfície dentária, assim como, a composição elementar do esmalte maduro depende da concentração de íons presente em várias etapas do desenvolvimento e da própria história do desenvolvimento do dente maduro.

Da mesma forma, ao comparar as fotomicrografias do controle+cárie do grupo **G1**, observamos claras diferenças nos padrões de desmineralização entre as amostras, sendo que algumas apresentaram-se com evidencias de perda mineral enquanto outras não. Provavelmente esta perda mineral seja devido a menores valores no conteúdo de Ca/P dessas amostras, o que as faria mais susceptíveis ao desafio cariogênico.

Em nosso trabalho, observamos que houve uma diferença estatisticamente significante na proporção Ca/P do grupo **G1**, entre o controle sadio e o controle+cárie, indicando que quando um dente sadio é submetido a desafio cariogênico, acontece uma diminuição marcante da proporção Ca/P, característica da instalação e progressão da cárie dental.

Metodologicamente, tomamos os valores do controle sadio e controle+cárie do grupo **G1**, como valores representativos da maior e menor proporção de Ca/P encontrados no esmalte dental humano.

Em nossa pesquisa, utilizamos os lasers de Er:YAG e Nd:YAG, devido a sua utilização clínica para procedimentos restauradores e limpeza de sulcos e fissuras, assim como a utilização de uma fresa diamantada, comumente utilizada nos procedimentos convencionais.

A respeito da interação do laser de Er:YAG com os tecidos duros, segundo Hibst & Keller,[15] este tipo de laser com comprimento de onda de 2940nm, coincide com o pico máximo de absorção da água e dos radicais $OH^-$ presentes nos minerais de esmalte e dentina. Esta coincidência de comprimentos de onda, lhe concede a capacidade de "seletividade" por ser bem absorvido pela hidroxiapatita e água dos tecidos duros, permitindo assim, que após a absorção da energia pela água, ocorra a rápida vaporização e expansão da mesma, com aumento da pressão interna do meio. Este aumento gera microexplosões que resultam na ejeção do substrato inorgânico, em forma de partículas microscópicas, removendo tecido cariado e deixando os túbulos dentinários abertos, sem alterar a estrutura do esmalte e dentina.

Neste processo, conhecido como efeito "fotomecânico", a maior parte da energia incidente é consumida, sendo que, apenas uma pequena fração resulta

em aquecimento do tecido remanescente, diferente do mecanismo fototérmico presente em outros sistemas laser.[15]

Isto é confirmado pelos resultados obtidos por vários autores,[3,12,15,25,31,32] que ao medir a temperatura gerada durante a ablação de tecidos dentais duros com laser de Er:YAG, observaram que quantidades mínimas de aquecimento eram transmitidas por difusão térmica, para os tecidos adjacentes.

Em nossa pesquisa, no que se refere ao aspecto morfológico dos grupos **G2** e **G4**, nossos achados estão em concordância com os resultados obtidos através das fotomicrografias resultantes da análise sob microscópio eletrónico de varredura, descritas na maioria dos trabalhos,[15,17,20,41] onde a irradiação com este tipo de laser, determina no esmalte cavidades rugosas bem definidas, porém irregulares, em forma de cratera, com paredes e superfície interna de aspecto "escamoso", livres de sinais de mudanças térmicas como, fusão e resolidificação do esmalte.

Algumas amostras, coincidindo com os achados de Burkes et al.,[3] em 1992, mostraram-se com projeções de esmalte e margens afiadas, levando-nos a pensar que isto pode ter acontecido pelas forças das microexplosões, que levaram à fratura dos prismas de esmalte.

É interessante observar também que as características morfológicas observadas nas áreas expostas ao laser de Er:YAG, se intensificaram a medida que se aumentou a energia, o que concorda com o trabalho de Paghdiwala et al.,[32] onde afirmam que a taxa de ablação e aumento de temperatura varia em função da energia, tempo de exposição sobre o dente e da utilização ou não de jato de água.

Existem vários trabalhos que realizam comparação do efeito do laser de Er:YAG utilizando ou não refrigeração a água.[3,17,18,20,32] Nas amostras que eram irradiadas sem jato de água, houve uma mínima taxa de ablação do esmalte, observando-se microscopicamente, esmalte fusionado, trincas, espaços vazios com margens lisas e em algumas das amostras houve vestígios de carbonização. Algumas delas também mostraram-se com aparência de "pisadas", atribuindo esta característica à elevação de temperatura que se concentrou no centro do defeito.[17] Segundo a literatura, uma vez que a água disponível no esmalte é evaporada e uma pequena taxa de ablação tenha ocorrido, se não houver água disponível para absorver a energia, não se produzirá mais ablação do tecido dentário, e sim aquecimento do esmalte irradiado pela energia do laser, produzindo mudanças térmicas e fusionando-o.[3]

O trabalho de Gouw-Soares et al.,[12] em 2001, comprovou que ao utilizar o laser de Er:YAG, com energias de 500 e 850mJ e 10 Hz de freqüência, houve elevação da temperatura menor do que $3^0$C na cavidade pulpar, demonstrando que ao utilizar este tipo de laser nestes parâmetros e acompanhado com um fino jato de água, os preparos cavitários são seguros e efetivos, já que é conhecido que com uma elevação da temperatura acima de $5.6^0$C, podem ocorrer danos irreversíveis para o tecido pulpar.[47]

Desta forma, a adição de um jato de água durante a irradiação não só possibilita uma rápida ablação do esmalte e dentina, mas também oferece proteção térmica para a polpa. Em nossa pesquisa, utilizamos o laser de Er:YAG associado a um fino jato de água e nossos achados confirmam os relatos descritos acima.

Alguns autores[21,29] afirmam também que o laser de Er:YAG pode ser utilizado na prevenção de cárie de esmalte.

No trabalho de Kayano et al.,[21] os dentes irradiados que foram avaliados para determinar a desmineralização sub-superficial através de microrradiografias, apresentaram ausência de áreas radiolúcidas, diferente dos dentes controle, que além de radiolúcidos, mostraram uma coloração esbranquiçada opaca quando observados ao microscópio.

Já outros autores[29] afirmam que, o aumento de Joules por pulso, de repetições e número de descargas, assim como a irradiação sem refrigeração com água,[18] tendem a determinar maior resistência ácida do esmalte.

Hossain et al.[18] em 2000, sugeriram que o esmalte fundido encontrado nas amostras irradiadas sem jato de água, produziu uma menor perda de íons $Ca^{2+}$ ppm, seguida pelas irradiadas com água e por último as controle.

No entanto, embora os resultados encontrados nesses trabalhos tenham demonstrado efetividade para a prevenção de cárie do esmalte, não foi avaliada a quantidade de temperatura produzida durante a irradiação sem refrigeração com água, deixando em dúvida se o tecido pulpar poderia sofrer danos térmicos que comprometeriam a sua vitalidade.

Segundo Burkes et al.,[3] a espessura de esmalte e dentina adjacentes à região irradiada, associado com a pouca penetração da energia decorrente da aplicação do Er:YAG sem refrigeração, poderiam dispersar o calor gerado minimizando os riscos de dano pulpar.

Sendo assim, apesar do sugerido na literatura, são necessários mais trabalhos de pesquisa que comprovem se a maior resistência ácida do esmalte

adquirida através da aplicação do laser de Er:YAG sem água é segura para os tecidos pulpares.

Da mesma forma, são necessárias mais avaliações a fim de comprovar se a longo prazo, a superfície irregular determinada pela irradiação por laser de Er:YAG associado a água, poderia se transformar num reservatório de bactérias, que no fim conduziriam à formação de cárie dental.

Quando avaliamos as fotomicrografias do grupo **G4**, a fim de avaliar a morfologia do esmalte irradiado por laser de Er:YAG e posteriormente submetido a formação de cárie , observamos que houve uma leve diminuição no aspecto escamoso das superfícies irradiadas, porém, com um aumento do aspecto esbranquiçado, sendo este mais acentuado nas bordas das projeções de esmalte, evidenciando claramente perda mineral. [6]

Acreditamos que esta diminuição do aspecto escamoso das superfícies do esmalte, se deve a que, após as microexplosões produzidas pelo efeito fotomecânico do laser de Er:YAG, muitos prismas de esmalte que foram fraturados e ficaram frágeis, foram facilmente eliminados durante o ataque da cárie.

Isto nos leva a pensar que no caso de uma irradiação acidental *"in vivo"*, estas superfícies que estão constantemente submetidas a esforços mastigatórios, escovação e mudanças de pH, poderiam ser mais susceptíveis à perda de prismas de esmalte frágeis, gerando um risco maior de dano à estrutura do dente, além de proporcionar uma via de penetração dos agentes cariogênicos no interior do esmalte, através dos espaços deixados pelos prismas eliminados durante a ablação.

Além disso, o simples fato de deixar uma superfície irregular, independente da profundidade do defeito, provavelmente poderia propiciar o acúmulo de placa bacteriana e como conseqüência, a formação de cárie dental.

Para confirmar esta hipótese, é necessário o desenvolvimento de outras pesquisas que permitam a comprovação de esse fato.

Em nosso trabalho, no que se refere à composição química, observamos leve tendência de queda na proporção Ca/P no grupo **G2** com mais evidencia após utilização de energias de 200, 300 e 400mJ, não entanto, o teste de Kruskal Wallis não evidenciou diferenças estatisticamente significantes quando comparado ao controle sadio do grupo **G1**. Estes achados estão em concordância com os resultados obtidos por Tokonabe et al. em 1999,[41] onde afirmaram que não acontecem mudanças químicas no esmalte pelo simples fato de irradiá-lo por laser de Er:YAG, já que foi demonstrado que os picos de Ca, P e proporção Ca/P, foram proporcionais aos valores normais de dentes não irradiados.

Quando comparamos o grupo **G4**, ao controle sadio do **G1**, observamos que somente foi diferente na energia de 200mJ, o que indica que após a formação de cárie nessa energia, a diminuição de Ca/P foi maior.

Além disso no grupo **G4**, se observou uma tendência leve, embora não significante, a aumentar a proporção Ca/P após a formação de cárie, a medida que aumentava a energia. Isto poderia ser devido a um ganho de Ca ou P proveniente das soluções DES/RE durante a formação de cárie, pelo fato de que a superfície irradiada por laser de Er:YAG se apresentava irregular, favorecendo a deposição destes elementos.

Apesar dos resultados morfológicos mostrarem sinais evidentes de desmineralização na superfície do esmalte no grupo **G4**, os resultados da proporção Ca/P quando comparados com o grupo **G2**, mostram que a perda mineral que ocorreu após o desafio cariogênico, se manteve semelhante.

É necessário salientar que a diminuição na proporção Ca/P ocorrida nos grupos **G2** e **G4**, foi muito menor do que a ocorrida quando o esmalte sadio foi submetido a desafio cariogênico (controle+cárie do grupo **G1**).

Ou seja, nas condições de nosso experimento, a irradiação acidental do esmalte por laser de Er:YAG com diferentes energias, provoca menor redução na proporção Ca/P do que a observada no controle submetido a cárie, indicando evidente tendência de maior resistência à desmineralização.

Obviamente estes resultados não permitem afirmar categoricamente que, o fato de irradiar acidentalmente uma superfície de esmalte, produz aumento na resistência à cárie, já que deverão ser considerados também outros fatores como: tempo de permanência ao desafio cariogênico, acúmulo de placa bacteriana, forças mastigatórias, etc, que poderiam potencializar esta queda na proporção Ca/P.

Por outro lado, no que diz respeito ao efeito do laser de Nd:YAG sobre tecidos duros, é conhecido que este produz efeito *fototérmico*, que nada mais é a transformação de energia eletromagnética em energia térmica, ocorrendo vaporização e superaquecimento do tecido, resultando numa fusão e recristalização do esmalte ou dentina.[13]

Sabe-se também que o laser de Nd:YAG, tem afinidade por tecidos pigmentados, possui vários graus de dispersão óptica e penetração no tecido, uma mínima absorção e nenhuma reflexão.[34]

Estudos *in vitro* demonstram que o aumento de temperatura é mínimo e dentro dos valores seguros para os tecidos delicados, quando a espessura de dentina remanescente excede a 1mm.[42]

O laser pulsado de Nd:YAG com fibra óptica, minimiza os efeitos térmicos nos tecidos subjacentes, devido à curta duração do pulso que é na faixa de microsegundos.[43]

Vários autores[24,26,27,33,35,39,40,45] tem observado que o efeito da irradiação em esmalte ou dentina com laser de Nd:YAG, produz uma superfície de aspecto vítreo, com características de fusão e recristalização, com formação de crateras rasas e as vezes com bordas elevadas, sendo que estes efeitos se intensificam quando é aumentada a potência e o tempo de exposição.

Embora os autores citados denominem o fenômeno resultante da irradiação com laser de Nd:YAG sobre o esmalte ou dentina como "recristalização", nós acreditamos que uma vez que o tecido resultante não apresenta uma estrutura cristalina bem definida, o que na verdade acontece é o fenômeno de "resolidificação", ou seja, a mudança de fase de um cristal, passando por uma fase líquida (fusão), resultando em um sólido amorfo.

Todos os efeitos antes mencionados pelos autores, foram confirmados em nossa pesquisa, sendo que a superfície de esmalte do grupo **G3** mostrou-se com aparência de *"lava vulcânica"* e além disso houve formação de trincas em toda a extensão do esmalte resolidificado. Ficou evidente também, que estes

aspectos tem relação direta com a potência utilizada, ou seja, quanto maior a potência aplicada, maior o efeito sobre o esmalte.

Estes efeitos tem suportado a indicação da utilização do laser de Nd:YAG como método de prevenção à cárie, como sugerem alguns autores.[24,30,33,35,39,40,45]

A formação de cárie tem mostrado que envolve dois grandes processos: 1) a dissolução de cristais de apatita do esmalte, e 2) a difusão de íons (como cálcio, fosfato e íons hidrogênio) para dentro e fora da micro estrutura do esmalte.[28]

Acredita-se que o laser de Nd:YAG age de diferentes formas na prevenção da cárie: segundo Yamamoto & Sato,[46] sua aplicação diminui a permeabilidade do esmalte em função das mudanças na matriz orgânica, que confere à superfície irradiada o aspecto liso; além disso, pela fusão dos cristais de esmalte ocorre um completo selamento da superfície bloqueando a difusão dos materiais ácidos e consequentemente diminuindo a desmineralização do esmalte.

Tagamori & Iwase[39] em 1995 demonstraram, que não há uma fusão homogênea dos cristais de hidroxiapatita e usualmente isto ocorre em áreas limitadas. Por essa razão, a resolidificação tem aparência de "mosaico", com algumas elevações e porosidades presentes. Isto demonstra que o selamento da superfície não é completo, e que quando aplicado em superfícies oclusais, apenas uma diminuição na profundidade dos sulcos e fissuras pode acontecer.[35]

Alguns trabalhos também demonstraram[39] aumento na resistência ácida do esmalte, atribuindo este fato à formação de cristais de maior tamanho do que o esmalte original, como conseqüência da irradiação do laser de Nd:YAG.

Por outro lado, visto que a temperatura de derretimento dos cristais de apatita do esmalte é superior a 1200$^0$C,[37] este fato nos levaria a pensar que esta elevação de temperatura poderia causar danos irreversíveis nos tecidos pulpares, mas como já foi mencionado por White et al.,[43] tal fato não ocorre devido à curta duração do pulso do laser de Nd:YAG, que é de microssegundos, tornando a fusão e resolidificação do esmalte, num processo seguro e viável.

Ao avaliar este aspecto, Yamamoto & Sato[46] comprovaram que a condução de calor do laser $CO_2$ e Nd:YAG sob a superfície fusionada (<5μm) foi limitada a uma profundidade de 10 a 20μm.

Fowler & Kuroda[10] a fim de caracterizar as mudanças estruturais que ocorrem no esmalte aquecido a altas temperaturas, informaram que quando o esmalte é exposto a temperaturas entre 100 a 650$^0$C, ocorre a diminuição no conteúdo de água e carbonato, aumentando os íons OH, decomposição de proteínas e a formação de Pirofosfato ($P_2O_7$). Quando as temperaturas variam de 250 a 400$^0$C, ocorre um aumento na seqüência de estruturas cristalinas de esmalte com a concomitante diminuição da solubilidade do mesmo.

Os mesmo autores[10] afirmam que, a solubilidade do esmalte pode diminuir ou aumentar, dependendo da proporção Ca/P que possua o esmalte e da quantidade dos produtos que se formam quando este é aquecido a temperaturas na faixa de 600 a 1100$^0$C (fases separadas de α- e / ou β-$Ca_3(PO_4)_2$, fase modificada da apatita).

Já quando o esmalte é aquecido acima dos 1100$^0$C se observa a formação dos produtos α-$Ca_3(PO_4)_2$ e o $Ca_4(PO_4)_2O$, que provocam marcado aumento na solubilidade do mesmo. Estes produtos também tem sido identificados em esmalte fusionado através de irradiação laser.[10]

Pode-se pensar então que, o aquecimento do esmalte acima dos $650^0$C pode não ser um beneficio para a solubilidade do esmalte, a menos que, segundo Fowler & Kuroda[10], íons cálcio sejam introduzidos para aumentar a proporção Ca/P próximo ao da hidroxiapatita.

Lizarelli & Bagnato,[26] observaram que após a fusão e resolidificação do esmalte decorrente da irradiação com laser de Nd:YAG, o esmalte exposto à ação do ácido fosfórico a 37%, apresentou menor resistência ácida, com a completa remoção do tecido resolidificado.

Em nosso trabalho, quando analisamos as fotomicrografias do grupo **G5,** onde após a irradiação por laser de Nd:YAG com varias potências, o esmalte foi submetido a desafio cariogênico, observamos que houve uma diminuição da elevação das bordas e do aspecto fusionado do esmalte, sugerindo dissolução e perda parcial da camada resolidificada do mesmo, como conseqüência do processo de formação de cárie.

Se analisarmos a teoria antes citada por Fowler & Kuroda[10], onde afirmam que a formação de elementos que aumentam a solubilidade do esmalte pode diminuir através da introdução de íons cálcio, a fim de elevar a proporção Ca/P do mesmo, podemos sugerir em nosso trabalho que, provavelmente a razão pela qual não houve dissolução completa dessa camada resolidificada de esmalte, tenha ocorrido devido ao conteúdo de Ca e P presente nas soluções DES/RE, utilizadas no modelo dinâmico de formação de cárie.

Obviamente, precisam-se desenvolver pesquisas específicas para confirmar esta hipótese, já que não foi o objetivo deste trabalho avaliar os elementos formados após a fusão e resolidificação do esmalte.

Como mencionado anteriormente, além da solubilidade do esmalte, a formação de cárie também envolve a difusão de íons através dos espaços inter e intra prismáticos.[28] Acredita-se que esta difusão seja controlada pela malha de matriz orgânica que ocupa esses espaços, retardando assim, a desmineralização do esmalte durante o ataque ácido.[7]

Uma vez que as proteínas do esmalte se decompõem perto dos $350^0$C a $400^0$C, se espera que entre essas temperaturas, a matriz orgânica diminua o efeito da desmineralização num 25 a 57% e que o aumente, após a sua completa decomposição acima dos $400^0$C.[37]

Como referido por Shu et al.,[37] a temperatura de derretimento dos cristais de esmalte é superior à $1200^0$C, podemos inferir então que, a matriz orgânica é completamente eliminada quando o esmalte é submetido a exposição com baixas potências do laser de Nd:YAG, já que ele geralmente se apresenta fusionado e resolidificado.

Este fato, nos levaria a considerar a hipótese de que com a perda da matriz orgânica induzida pela irradiação, poderá acontecer um aumento na permeabilidade do esmalte dental e subsequente diminuição da resistência ácida. Por outro lado, a fusão e resolidificação que acontece após a irradiação, poderia também eliminar os espaços vazios deixados pela matriz orgânica.

Yamamoto & Sato,[46] afirmam que a aplicação do laser de Nd:YAG diminui a permeabilidade do esmalte em função das mudanças na matriz orgânica, que confere à superfície irradiada o aspecto liso.

Já Tagamori & Morioka[40] afirmaram que havia aumento na permeabilidade do esmalte, ao evidenciarem a grande quantidade de flúor que penetrou no seu interior através dos espaços deixados pelo laser.

Oho & Morioka,[30] concordam com essa evidencia ao dizer que, o cálcio liberado durante a desmineralização do esmalte foi incorporado e depositado nos pequenos espaços produzidos pelo laser.

Da mesma forma, nós podemos observar que nas fotos do grupo **G5**, houve algumas amostras nas quais é evidente o acúmulo de depósitos sobre a superfície do esmalte resolidificado, onde provavelmente, elementos provenientes das soluções DES/RE ou até mesmo, dos íons Ca e P do próprio dente que foram perdidos durante a desmineralização, se reposicionaram sobre a superfície do mesmo. Isto indica então, a probabilidade de que o esmalte fique mais permeável, e que durante o ciclo de pH, possa haver uma incorporação de íons Ca e P sobre os espaços produzidos pela irradiação de laser de Nd:YAG, contribuindo para o aumento da resistência ácida do esmalte.

Este fato também nos leva a pensar que o modelo dinâmico de formação de cárie (DES/RE) escolhido para este trabalho, reproduz de uma forma aproximada o que acontece na boca: troca de íons da saliva para o interior do esmalte e do esmalte para o meio oral.

Contudo, é provável que esse aumento aparente na permeabilidade do esmalte, contribua para o sucesso encontrado na combinação da irradiação do laser de Nd:YAG, com aplicação de flúor fosfato acidulado (APF), demonstrado por Tagamori e Morioka[38], já que em seus trabalhos, a porosidade da superfície induzida pelo laser, permitiu a penetração do flúor no esmalte, ajudando-o na resistência à cárie.

É unanime a conclusão dos pesquisadores ao dizer que, as alterações provocadas pela irradiação com laser de Nd:YAG, tais como: mudanças morfológicas da estrutura do esmalte (fusão e resolidificação), alterações na sua

composição química e o aumento do tamanho dos micro-cristais na hidroxiapatita, produzem aumento na resistência à cárie do esmalte.

No que se refere a nossos resultados da proporção Ca/P, no grupo **G3** quando comparados com o controle sadio do grupo **G1**, apesar das diferenças observadas na análise de médias, observamos que os valores de proporção Ca/P representados pelos postos médios não foram estatisticamente significante entre eles. Isto pode significar que o simples fato de irradiar acidentalmente uma superfície de esmalte com laser de Nd:YAG em várias potências, não reduz a proporção Ca/P.

Isto é mais evidente no caso da menor potência utilizada (0,75W), onde quase não provocou nenhum efeito morfológico sobre o esmalte, deixando-o semelhante ao normal também na proporção Ca/P.

Da mesma forma, quando comparado o grupo **G3** ao grupo **G5**, embora as leves diferenças observadas através da análise das médias entre as potências iguais nas situações de cárie e sadio, elas não foram estatisticamente significantes. Isto significa que apesar das mudanças morfológicas observadas após a formação de cárie no grupo **G5**, os valores de proporção Ca/P, foram semelhantes, provavelmente confirmando o fato de que durante o ciclo de pH, pode haver uma incorporação de íons Ca e P sobre os espaços produzidos pela irradiação de laser de Nd:YAG, demonstrado na homogeneidade de valores de proporção Ca/P.

É necessário salientar que a perda de conteúdo mineral ocorrida nos grupos **G3** e **G5**, foram menores do que as ocorridas quando o esmalte sadio foi submetido a desafio cariogênico (controle+cárie do grupo **G1**).

Isto quer dizer que nas condições do nosso experimento, quando o esmalte irradiado acidentalmente por laser de Nd:YAG nas diferentes potências utilizadas, não diminui tanto a resistência à cárie do esmalte, como no caso do controle+cárie (**G1**).

Outro fato interessante de se discutir é que se observa no grupo **G5**, uma tendência de diminuir a proporção Ca/P a medida que a potência aumenta, embora essa diminuição não tenha sido estatisticamente significante, podemos pensar que assim como relatado na literatura e verificado na análise morfológica neste trabalho, existe a probabilidade de que o esmalte resolidificado após a irradiação com laser de Nd:YAG, tenha uma tendência a ser mais solúvel ao ataque ácido, perdendo-se a camada mais superficial do mesmo. Embora este fato não seja conclusivo, podemos pensar que essa tendência à solubilidade, poderia contribuir para uma diminuição na resistência ácida do esmalte. Além disso, acreditamos que seja indispensável o desenvolvimento de pesquisas que comprovem se, o fato de deixar uma superfície irregular sobre o esmalte após a irradiação com laser de Nd:YAG, propicia a formação de um reservatório de bactérias, que poderiam a longo prazo, ser a causa de formação de cárie dental.

Existem muitas teorias sobre o mecanismo de interação dos lasers com os tecidos, que ainda não foram confirmadas pela literatura. Uma delas é que, os íons acelerados do plasma formado durante a irradiação, podem contribuir com a ablação do tecido no momento que eles entram em contato com a superfície irradiada. Mas o tecido ablacionado por estes íons, teria dificuldade de ser eliminado durante o processo, já que o mesmo plasma impediria esta eliminação, provocando uma re-deposição do mesmo sobre a superfície tratada.

Se em nosso trabalho pensarmos nesta teoria, os resultados da proporção Ca/P do grupo **G5** poderiam ter alguma relação a este fato, já que observarmos uma tendência, embora não significante, a uma maior diminuição da proporção Ca/P após o desafio cariogênico, a medida que aumentaram as potências. Isto indicaria que, o tecido re-depositado sobre a superfície irradiada com Nd:YAG, fez que os valores de proporção Ca/P fossem maiores antes da formação de cárie, já que provavelmente durante o desafio cariogênico, estas moléculas foram facilmente eliminadas, evidenciando assim, menores valores na proporção Ca/P após a formação de cárie.

Logicamente, se faz necessário o desenvolvimento de trabalhos de pesquisa específicos que possam sustentar estas teorias.

No caso do esmalte danificado com fresa diamantada, (fresa sadio do grupo **G6**), as alterações morfológicas se observem claramente como cavidades com margens definidas, estrias horizontais associadas a acúmulo de detritos, intercaladas por espaços planos e lisos entre elas e livre de trincas.

A primeira impressão que dá ao observar tais amostras, é de que houve uma leve eliminação da camada superficial do esmalte por ação dos diamantes da fresa, associado a acúmulo de detritos, como referenciado por Arcuri et al.,[1] em 1993, o que talvez não seria muito comprometedor para a saúde do dente, se ficar exposto ao meio oral.

Mas ao analisarmos as amostras da fresa+cárie, no mesmo grupo, observamos que houve uma mudança significativa na morfologia superficial, após este ser submetido a desafio cariogênico. O aparecimento de trincas que se irradiam do centro para fora do dano e a evidente profundidade e largura

significativa das mesmas, nos leva a pensar que ao danificar acidentalmente a superfície de esmalte com fresa diamantada, poderia facilitar a penetração de substâncias cariogênicas para o interior do esmalte, deixando-o mais susceptível à cárie.

O aparecimento destas trincas na subsupefície foram relatadas na literatura por Xu et al.,[44] em 1997.

Acreditamos que as trincas observadas em nosso estudo, tenham sido provocadas pelo impacto em alta velocidade dos grânulos de diamante sobre o esmalte durante o procedimento de corte. Além disso, pelo observado nas fotomicrografias deste grupo, os detritos de esmalte que cobriam estas trincas, foram eliminados pelas substancias ácidas, durante o processo de formação de cárie.

Descartamos a possibilidade destas trincas serem produzidas como resultado da desidratação a vácuo, já que todas as amostras receberam o mesmo tratamento, e se fosse essa a razão do aparecimento das mesmas, elas estariam presentes nas amostras sem cárie do mesmo grupo.

No que se refere a proporção de Ca/P, quando comparamos as situações de sadio e cárie dos grupos **G1** frente ao grupo **G6**, a diferença significante entre eles revela que, pelo simples fato de danificar a superfície do esmalte com fresa diamantada, provoca significativa perda na proporção Ca/P, que se mantém após de submeter a superfície à desafio cariogênico.

É curioso que nos tratamentos com Er:YAG e com fresa diamantada, observamos uma queda na proporção Ca/P pelo simples fato de remover a camada superficial do esmalte. Isto nos faz pensar na teoria descrita por

Einsphar & Bugg,[6] ao dizer que, a concentração dos componentes do esmalte varia conforme a distância da superfície dentária.

No caso da utilização do Er:YAG, observamos que quando houve uma pequena ablação de tecido, houve uma proporção Ca/P maior do que a encontrada nas regiões mais ablacionadas.

No grupo da fresa, provavelmente a eliminação do esmalte provocado pela ação dos diamantes da fresa foi maior e por tanto, sendo que é uma camada mais profunda, encontramos menores valores de Ca/P.

Mas apesar disto, observamos também que quando se atingem as camadas internas de esmalte, a diminuição dos valores de proporção Ca/P após a formação de cárie, se mantém quase sem mudança.

Uma situação diferente aconteceu nas duas condições do grupo **G1**. Como o esmalte submetido a formação de cárie representava a camada mais superficial, esperávamos observar uma menor queda na proporção Ca/P depois da simulação de cárie. No entanto, o controle+cárie foi o que demonstrou uma diminuição mais acentuada da proporção Ca/P. Este fato nos leva a pensar que o nível de maturação do esmalte, tipo e padrão de mineralização, podem ter influenciado nossos resultados, uma vez que os dentes utilizados nesta pesquisa foram terceiros molares inclusos, nos quais provavelmente o esmalte dental encontrava-se imaturo e por essa razão, mais susceptível à cárie.

Segundo estas considerações, nas condições da nossa pesquisa, o esmalte danificado acidentalmente com fresa diamantada, fica mais susceptível a formação de cárie do que o esmalte sadio, no entanto, menos susceptível do que o esmalte sadio submetido a desafio cariogênico.

Quando observamos todos os resultados em conjunto, todos os tratamentos realizados no esmalte, seja com fresa diamantada ou com lasers, conferem maior resistência à cárie do que o esmalte sadio submetido a formação de cárie.

Obviamente, como relatado anteriormente, se faz necessário a realização de mais pesquisas que comprovem estes dados, já que com as limitações deste trabalho, não é possível afirmar de forma categórica que, o fato de danificar o esmalte dental com fresa diamantada ou irradiar com lasers de Er:YAG ou Nd:YAG de forma acidental, seja de benefício para a resistência à cárie do esmalte, devido a que existem muitos outros fatores que acontecem *"in vivo"*, como por exemplo, dieta do paciente, acúmulo de placa bacteriana, paciente alto risco a cárie, etc., que devem ser considerados para poder afirmar que, não há risco nenhum para a saúde do dente, ao deixarmos exposta ao meio bucal, a superfície de esmalte dental danificado acidentalmente.

# Conclusão

Em função das condições de nossa pesquisa, concluímos que:

1. Conforme à proporção Ca/P, todos os grupos apresentaram maior resistência à cárie do que o controle após o desafio cariogênico.

2. Segundo a morfologia observada, todos os tratamentos produziram alterações na superfície do esmalte, sendo que, a simulação acidental realizada com fresa diamantada determinou maior dano, provocando numerosas trincas amplas e profundas que poderiam facilitar a penetração de ácidos. Além disso, constatamos relação direta entre as alterações morfológicas no esmalte e o aumento dos parâmetros de irradiação utilizados para os lasers de Er:YAG e Nd:YAG.

## Referências bibliográficas*

1. ARCURI, M. R. et al. Scanning electron microscope analysis of tooth enamel treated with rotary instruments and abrasives. *J. Prosthet. Dent.,* v.65, p.483-90, 1993.
2. AYRES, M. et al. *Bioestat: 2.0 Aplicações estatísticas nas áreas das ciencias biológicas e médicas.* Manaus: Sociedade Civil Mamirauá CNPq, 2000. 259p.
3. BURKES, E. J. et al. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. *J. Prosthet. Dent.,* v.67, p.847-51, 1992.
4. CECCHINI, R. C. M. Estudo in vitro do Laser de Nd:YAG em esmalte dental: análise de fluorescência de raios X e microscopia eletrônica de varredura. 1997. 108f. Dissertação. Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
5. CECCHINI, R. C. M. Estudo in vitro do efeito da radiação do laser de Er:YAG em esmalte dental: análise de espectrometria de emissão atômica e microscopia eletrônica de varredura. 2001. 119f. Tese. Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
6. EINSPAHR, H. M., BUGG, C. E. Esmalte, apatita e cárie. Um enfoque cristalográfico. In: MENAKER, L, MORHART, R. E., NAVIA, J. M. *Cáries dentárias. Bases biológicas.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. cap.7, p.170-84.

---

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP. *Normas para publicações da UNESP*. São Paulo: Editora UNESP, 1994. 4v., v.2. Referências bibliográficas.

7. FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Chemical and histological changes during development of artificial caries. *Caries Res.*, v.19, n.1, p.1-10, 1985.

8. FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Enhancement of remineralization *in vitro*. In: LEACH,S.A .*Factors relatin to demineralization and remineralization of the teeth.* Oxford: Oxford IRL, 1986. p. 23-34.

9. FLEMING, S., TAWASHI, R. Dissolution retardation of dental enamel with especial reference to the protein matrix. *Can. J. Pharm. Sci.,* v.12, p.55-9, 1977.

10. 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.

11. GERRARD, W. A., WINTER, P. J. Evaluation of tooth pastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. *Caries Res*., v.20, p.209-16, 1986.

12. GOUW-SOARES, S. et al. Temperature rise in cavities prepared in vitro by Er:YAG laser. *J. Oral Laser Applications,* v.1, p.119-23, 2001.

13. HARRIS, D. M., PICK, R. M. Laser physics. In: MISERENDINO, L. J., PICK, R. M. *Lasers in dentristy.* Chicago: Quintessence, 1995. cap.2, p.27-38.

14. HATTAB F. N., MOK, N. Y., AGNEW, E. C. Artificially formed caries-like lesions around restorative materials. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.118, p. 193-197, 1989.

15. HIBST, R., KELLER, U. Experimental studies of the aplication of the Er:YAG laser on dental hard substances: 1. Measurement of ablation rate. *Lasers Surg. Med.*, v.9, p.338-44, 1989.

16. HOFFMAN, S. Histopatologia das lesões de cárie. In: MENAKER, L., MORHART, R. E., NAVIA, J. M. *Cáries dentárias. Bases Biológicas.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. cap.9, p.200-18.

17. HOSSAIN, M. et al. Ablation depth and morfological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* v.17, p.105-9, 1999.

18. HOSSAIN, M. et al. Caries-preventive effects of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* v.18, p.61-5, 2000.

19. HOSSAIN, M. et al. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J Clin. Laser Med. Surg.,* v.19, p.105-8, 2001.

20. JELÍNKOVÁ, H. et al. The influence of Er:YAG laser ablation on cavity surface and cavity shape. In: FEATHERSTONE, J. D., WHITE, J. M., NEEV, J. (Eds). *Laser in dentistry II*. Laguna Beach: SPIE, 1996. p. 193-9.

21. KAYANO, T. et al. Effect of Er:YAG laser irradiation on human extracted teeth. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* p. 147-50, 1991.

22. KELLER, U., HIBST, R. Experimentasl studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light Microscopic and SEM investigations. *Lasers Surg. Med.*, v.9, p.345-51, 1989.

23. KELLER, U. et al. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. *J. Dent.,* v.26, p.649-56, 1998.

24. KIMURA, H. et al. Application of laser on dental treatment. *J. Osaka Univ. Dent. Sch.,* v.23, p.31-42, 1983.

25. LI, Z-Z. et al. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg. Med.,* v.12, p.625-30, 1992.

26. LIZARELLI, R. F. Z., BAGNATO, V. S. Análise estrutural de esmalte e dentina irradiados com Nd:YAG laser com e sem ataque com ácido fosfórico a 35%. *JBC - Jornal Brasileiro de Clínica Estética em Odontologia,* v.3, p.33-9, 1999.

27. LIZARELLI, R. F. Z. et al. Characterization of enamel and dentine response to Nd:YAG picosecond laser ablation. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* v.17, p.127-32, 1999.

28. MORENO, E. C., ZAHRADNICK, R. T. Chemestry of enamel subsurface demineralization *in vitro*. *J. Dent. Res.,* v.53, p.226-35, 1974.

29. MORIOKA, T., TAGAMORI, S., OHO, T. Acid resistance of lased human enamel with Er:YAG laser. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* p.215-7, 1991.

30. OHO, T., MORIOKA, T. A. Compositional and structural changes of human lased enamel (Abstract). *J. Jpn. Soc. Laser Dent.*, v.9, n.3, p.205-9, 1988. apud: PELINO, J. E. P. et al. In vitro study of the Nd:YAG laser effect on human dental enamel: optical and scanning electron microscope analysis. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* v.17, p.171-7, 1999.

31. PAGHDIWALA, A. F. Does the laser work on hard dental tissue? *J. Am. Dent. Assoc.*, v.122, p.79-80, 1991.

32. PAGHDIWALA, A. F., VAIDYNATHAN, M., PAGHDIWALA, M. F. Evaluation of Er:YAG laser radiation of hard dental tissues: analysis of temperature changes, depth of cuts and structural effects. *Scanning Microsc.,* v.7, p.989-97, 1993.

33. PELINO, J. E. P. et al. In vitro study of the Nd:YAG laser effect on human dental enamel: optical and scanning electron microscope analysis. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* v.17, p.171-7, 1999.

34. PICK, R. M. Using lasers in clinical dental practice. *J. Am. Dent. Assoc.,* v.124, p.37-47, 1993.

35. RODE, S. M. et al. Ação do laser Nd:YAG sobre o esmalte de dentes decíduos humanos. Estudo ultra-estrutural *in vitro.* In: REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS. 11, 1994, Águas de São Pedro. *Anais...* Águas de São Pedro: SBPqO, 1994, p. 8. (Resumo 12).

36. SERRA, M. C., CURY, J. A. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. *Quintessence Int.*, v. 23, p.143-7, 1992.

37. SHU, C-Y.S. et al. Effect of low energy $CO_2$ laser irradiation and organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *J. Dent. Res.,* v. 79, p.1725-30, 2000.

38. SILVERSTONE, L. M. The effect of fluoride in the remineralization of enamel caries-like lesions in vitro. *J. Public Health Dent.*, v.42, p. 42-53, 1982.

39. TAGOMORI, S., IWASE, T. Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd:YAG laser. *Caries Res.,*v.29, p.513-20, 1995.

40. TAGAMORI, S., MORIOKA, T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.,* v.23, p.225-31, 1989.

41. TOKONABE, H. et al. Morfological changes of human teeth with Er:YAG laser irradiation. *J. Clin. Laser Med. Surg.,* v.17, n.1, p.7-12, 1999.

42. WHITE, J. M. et al. Effects of Nd:YAG laser on pulp of strected human teeth. *J. Dent. Res.,* v.69, p. 300, 1990. (Abstract 1534).

43. WHITE, J. M. et al. Surface temperature and thermal penetration depth of Nd:YAG laser applied to enamel and dentin. apud. ANDERSON, R. R. Laser surgery: advanced characterization, therapeutics and systems III. *Proc. SPIE*, v.1643, p.423-36, 1992.

44. XU, H. H. et al. Enamel subsurface damage due to tooth preparation qth diamonds. *J Dent Res.*, v.70, p.1698-706, 1997.

45. YAMAMOTO, H., OOYA, K. Potencial of yttrium-aluminum-garnet laser in caries prevention. *J. Oral Pathol.,* v.3, p.7-15, 1974.

46. YAMAMOTO, H., SATO, K. Prevention of dental caries by Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.,* v.59, p.2171-7, 1980.

47. ZACH, L., COHEN, G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.19, p.515-28, 1965.

# Anexos

Quadro A1 - Quadro resumo dos grupos experimentais.

| | **Área 1** | **Área 2** | **Área 3** | **Área 4** |
|---|---|---|---|---|
| **G1** | Controle<br>Sadio | Controle<br>Sadio | Controle<br>+<br>Cárie | Controle<br>+<br>Cárie |
| **G2** | **Er:YAG**<br>100mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>21J/cm$^2$ | **Er:YAG**<br>200mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>43J/cm$^2$ | **Er:YAG**<br>300mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>64J/cm$^2$ | **Er:YAG**<br>400mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>86J/cm$^2$ |
| **G3** | **Nd:YAG**<br>0,75 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>27J/cm$^2$ | **Nd:YAG**<br>1 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>35J/cm$^2$ | **Nd:YAG**<br>2 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>71J/cm$^2$ | **Nd:YAG**<br>3 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>106J/cm$^2$ |
| **G4** | **Er:YAG**<br>100mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>21J/cm$^2$<br>+<br>cárie | **Er:YAG**<br>200mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>43J/cm$^2$<br>+<br>Cárie | **Er:YAG**<br>300mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>64J/cm$^2$<br>+<br>Cárie | **Er:YAG**<br>400mJ/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>86J/cm$^2$<br>+<br>Cárie |
| **G5** | **Nd:YAG**<br>0,75 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>27J/cm$^2$<br>+<br>Cárie | **Nd:YAG**<br>1 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>35J/cm$^2$<br>+<br>Cárie | **Nd:YAG**<br>2 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>71J/cm$^2$<br>+<br>Cárie | **Nd:YAG**<br>3 W/<br>10Hz/<br>3 seg./<br>106J/cm$^2$<br>+<br>Cárie |
| **G6** | Fresa<br>Sadio | Fresa<br>Sadio | Fresa<br>+<br>Cárie | Fresa<br>+<br>Cárie |

Tabela A1. Porcentagens de Cálcio, Fósforo e a proporção Ca/P para o grupo **G1**.

| Corpo-de-prova | Controle Sadio | | | Controle+Cárie | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P |
| 1 | 60,19 | 39,81 | 1,51 | 50,75 | 49,25 | 1,03 |
| 2 | 52,64 | 47,36 | 1,11 | 51,17 | 48,83 | 1,05 |
| 3 | 58,63 | 41,37 | 1,42 | 50,35 | 49,65 | 1,01 |
| 4 | 55,16 | 44,84 | 1,23 | 50,39 | 49,61 | 1,02 |
| 5 | ------ | ------ | ------ | 50,90 | 49,10 | 1,04 |
| 6 | 53,31 | 46,69 | 1,14 | 50,07 | 49,93 | 1,00 |
| 7 | 64,08 | 35,92 | 1,78 | 50,84 | 49,16 | 1,03 |
| 8 | 58,84 | 41,16 | 1,43 | 50,72 | 49,28 | 1,03 |
| 9 | 56,46 | 43,54 | 1,30 | 50,28 | 49,72 | 1,01 |
| 10 | 53,09 | 46,91 | 1,13 | 49,64 | 50,36 | 0,99 |
| média | 56,93 | 43,07 | 1,34 | 50,51 | 49,49 | 1,02 |
| desvio padrão | 3,84 | 3,84 | 0,22 | 0,45 | 0,45 | 0,02 |

Tabela A2. Porcentagens de Cálcio, Fósforo e a proporção Ca/P para o grupo **G6**.

| Corpo-de-prova | Fresa Sadio | | | Fresa+Cárie | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P |
| 1 | ------ | ------ | ------ | 53,83 | 46,17 | 1,17 |
| 2 | 53,01 | 46,99 | 1,13 | 52,99 | 47,01 | 1,13 |
| 3 | 53,19 | 46,81 | 1,14 | 55,44 | 44,56 | 1,24 |
| 4 | 52,59 | 47,41 | 1,11 | 52,51 | 47,50 | 1,11 |
| 5 | 52,92 | 47,08 | 1,12 | 51,27 | 48,73 | 1,05 |
| 6 | 52,54 | 47,46 | 1,11 | 52,34 | 47,66 | 1,10 |
| 7 | ------ | ------ | ------ | 54,06 | 45,94 | 1,18 |
| 8 | 52,38 | 47,62 | 1,10 | 52,79 | 47,21 | 1,12 |
| 9 | 52,26 | 47,74 | 1,09 | 51,63 | 48,38 | 1,07 |
| 10 | 51,05 | 48,96 | 1,04 | 51,31 | 48,69 | 1,05 |
| média | 52,49 | 47,51 | 1,11 | 52,82 | 47,18 | 1,12 |
| desvio padrão | 0,67 | 0,67 | 0,03 | 1,33 | 1,33 | 0,06 |

Tabela A3. Porcentagens de Cálcio, Fósforo e a proporção Ca/P para os grupos **G2** e **G4**.

| Corpos de prova | 100 mJ | | | 200 mJ | | | 300 mJ | | | 400 mJ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P |
| **G2** Er:YAG | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 59,13 | 40,87 | 1,45 | 55,24 | 44,76 | 1,23 | 55,39 | 44,61 | 1,24 | 57,08 | 42,92 | 1,33 |
| 2 | 55,80 | 44,20 | 1,26 | 53,21 | 46,79 | 1,14 | 54,75 | 45,25 | 1,21 | 54,31 | 45,69 | 1,19 |
| 3 | ------ | ------ | ------ | ------ | ------ | ------ | 53,44 | 46,56 | 1,15 | 54,18 | 45,82 | 1,18 |
| 4 | 58,68 | 41,32 | 1,42 | 52,72 | 47,28 | 1,11 | 55,05 | 44,95 | 1,22 | 53,24 | 46,76 | 1,14 |
| 5 | 56,71 | 43,29 | 1,31 | 54,92 | 45,08 | 1,22 | 56,34 | 43,66 | 1,29 | 53,45 | 46,55 | 1,15 |
| 6 | 56,34 | 43,66 | 1,29 | 54,40 | 45,60 | 1,19 | 55,21 | 44,79 | 1,23 | 54,55 | 45,45 | 1,20 |
| 7 | 54,73 | 45,27 | 1,21 | 54,32 | 45,68 | 1,19 | 53,15 | 46,85 | 1,13 | 53,07 | 46,93 | 1,13 |
| 8 | 57,07 | 42,93 | 1,33 | 57,03 | 42,97 | 1,33 | 54,79 | 45,21 | 1,21 | 53,64 | 46,36 | 1,16 |
| 9 | 57,11 | 42,89 | 1,33 | 53,11 | 46,89 | 1,13 | 54,81 | 45,19 | 1,21 | 54,29 | 45,71 | 1,19 |
| 10 | 54,18 | 45,82 | 1,18 | 53,10 | 46,90 | 1,13 | 54,05 | 45,95 | 1,18 | 55,08 | 44,92 | 1,23 |
| média | 56,64 | 43,36 | 1,31 | 54,23 | 45,77 | 1,19 | 54,70 | 45,30 | 1,21 | 54,29 | 45,71 | 1,19 |
| desvio padrão | 1,63 | 1,63 | 0,09 | 1,38 | 1,38 | 0,07 | 0,94 | 0,94 | 0,05 | 1,16 | 1,16 | 0,06 |
| **G4** Er:YAG+cárie | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 50,91 | 49,09 | 1,04 | 51,67 | 48,33 | 1,07 | 53,57 | 46,43 | 1,15 | 56,27 | 43,73 | 1,29 |
| 2 | 54,78 | 45,22 | 1,21 | 53,93 | 46,07 | 1,17 | 53,38 | 46,62 | 1,14 | 54,99 | 45,01 | 1,22 |
| 3 | 56,74 | 43,26 | 1,31 | 52,07 | 47,94 | 1,09 | 53,76 | 46,24 | 1,16 | 52,60 | 47,40 | 1,11 |
| 4 | 56,73 | 43,27 | 1,31 | 52,63 | 47,37 | 1,11 | 52,58 | 47,42 | 1,11 | 54,31 | 45,70 | 1,19 |
| 5 | 54,95 | 45,05 | 1,22 | 52,95 | 47,05 | 1,13 | 56,25 | 43,75 | 1,29 | 56,42 | 43,58 | 1,29 |
| 6 | 53,53 | 46,48 | 1,15 | 53,54 | 46,46 | 1,15 | 52,51 | 47,49 | 1,11 | 52,91 | 47,09 | 1,12 |
| 7 | 55,91 | 44,09 | 1,27 | 55,02 | 44,98 | 1,22 | 53,83 | 46,17 | 1,17 | 54,70 | 45,30 | 1,21 |
| 8 | 58,80 | 41,21 | 1,43 | 52,64 | 47,36 | 1,11 | 53,24 | 46,76 | 1,14 | 54,32 | 45,68 | 1,19 |
| 9 | 63,32 | 36,69 | 1,73 | 55,56 | 44,44 | 1,25 | 56,27 | 43,73 | 1,29 | 53,58 | 46,42 | 1,15 |
| 10 | 56,45 | 43,55 | 1,30 | 53,44 | 46,56 | 1,15 | 55,97 | 44,03 | 1,27 | 55,53 | 44,47 | 1,25 |
| média | 56,21 | 43,79 | 1,30 | 53,34 | 46,66 | 1,14 | 54,14 | 45,86 | 1,18 | 54,56 | 45,44 | 1,20 |
| desvio padrão | 3,28 | 3,28 | 0,18 | 1,23 | 1,23 | 0,06 | 1,47 | 1,47 | 0,07 | 1,30 | 1,30 | 0,06 |

Tabela A4. Porcentagens de Cálcio, Fósforo e a proporção Ca/P para os grupos **G3** e **G5**

| Corpo-de-prova | 0,75W | | | 1,0W | | | 2,0W | | | 3,0W | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P | % Ca | % P | Ca/P |
| **G3** Nd:YAG | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 57,45 | 42,55 | 1,35 | 54,28 | 45,72 | 1,19 | 52,89 | 47,11 | 1,12 | 54,62 | 45,38 | 1,20 |
| 2 | 56,70 | 43,30 | 1,31 | 55,88 | 44,12 | 1,27 | 53,56 | 46,44 | 1,15 | 54,11 | 45,89 | 1,18 |
| 3 | 60,33 | 39,67 | 1,52 | 51,61 | 48,39 | 1,07 | 54,46 | 45,54 | 1,20 | 53,00 | 47,00 | 1,13 |
| 4 | 49,31 | 50,70 | 0,97 | 52,17 | 47,83 | 1,09 | 53,38 | 46,63 | 1,14 | 53,76 | 46,24 | 1,16 |
| 5 | 56,97 | 43,03 | 1,32 | 53,73 | 46,29 | 1,16 | 55,37 | 44,63 | 1,24 | 55,07 | 44,93 | 1,23 |
| 6 | 61,40 | 38,60 | 1,59 | 55,00 | 45,00 | 1,22 | 52,94 | 47,06 | 1,12 | 51,52 | 48,48 | 1,06 |
| 7 | 57,99 | 42,01 | 1,38 | 52,53 | 47,47 | 1,11 | 52,10 | 47,90 | 1,09 | 53,54 | 46,46 | 1,15 |
| 8 | 56,10 | 43,90 | 1,28 | 55,41 | 44,59 | 1,24 | 53,52 | 46,48 | 1,15 | 52,52 | 47,48 | 1,11 |
| 9 | ------ | ------ | ------ | 52,46 | 47,54 | 1,10 | 51,56 | 48,44 | 1,06 | 51,90 | 48,10 | 1,08 |
| 10 | 55,95 | 44,05 | 1,27 | 52,74 | 47,26 | 1,12 | 54,13 | 45,87 | 1,18 | 52,82 | 47,18 | 1,12 |
| média | 56,91 | 43,09 | 1,33 | 53,58 | 46,42 | 1,16 | 53,39 | 46,61 | 1,15 | 53,29 | 46,71 | 1,14 |
| desvio padrão | 3,41 | 3,41 | 0,17 | 1,50 | 1,50 | 0,07 | 1,11 | 1,11 | 0,05 | 1,15 | 1,15 | 0,05 |
| **G5** Nd:YAG+cárie | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 58,37 | 41,63 | 1,40 | 52,84 | 47,17 | 1,12 | 53,07 | 46,93 | 1,13 | 50,95 | 49,05 | 1,04 |
| 2 | 54,99 | 45,01 | 1,22 | 51,70 | 48,30 | 1,07 | 52,63 | 47,37 | 1,11 | 51,10 | 48,91 | 1,04 |
| 3 | 58,81 | 41,20 | 1,43 | 53,91 | 46,09 | 1,17 | 52,81 | 47,19 | 1,12 | 52,26 | 47,74 | 1,09 |
| 4 | 59,25 | 40,75 | 1,45 | 54,28 | 45,72 | 1,19 | 53,00 | 47,00 | 1,13 | 51,54 | 48,46 | 1,06 |
| 5 | 58,26 | 41,74 | 1,40 | 51,05 | 48,95 | 1,04 | 51,63 | 48,37 | 1,07 | 51,15 | 48,85 | 1,05 |
| 6 | ------ | ------ | ------ | 55,96 | 44,04 | 1,27 | 53,54 | 46,46 | 1,15 | 53,55 | 46,45 | 1,15 |
| 7 | 58,96 | 41,04 | 1,44 | ------ | ------ | ------ | 52,47 | 47,53 | 1,10 | 53,12 | 46,89 | 1,13 |
| 8 | ------ | ------ | ------ | 51,21 | 48,79 | 1,05 | 52,31 | 47,69 | 1,10 | 52,75 | 47,25 | 1,12 |
| 9 | 61,25 | 38,75 | 1,58 | 54,25 | 45,75 | 1,19 | 53,92 | 46,08 | 1,17 | 53,24 | 46,76 | 1,14 |
| 10 | 60,38 | 39,62 | 1,52 | 56,29 | 43,71 | 1,29 | 54,49 | 45,51 | 1,20 | 52,61 | 47,39 | 1,11 |
| média | 58,78 | 41,22 | 1,43 | 53,50 | 46,50 | 1,15 | 52,99 | 47,01 | 1,13 | 52,23 | 47,77 | 1,09 |
| desvio padrão | 1,84 | 1,84 | 0,11 | 1,94 | 1,94 | 0,09 | 0,83 | 0,83 | 0,04 | 0,97 | 0,97 | 0,04 |

Tabela A5. Média da razão de porcentagens de cálcio e fósforo Ca/P, desvio padrão, limite inferior (LI) e limite superior (LS) do intervalo de 95% de confiança para a média populacional.

| Grupo | Tratamento | Média | Desvio padrão | IC de 95% | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | LI | LS |
| G1 | controle sadio | 1,34 | 0,221 | 1,17 | 1,51 |
| | Controle+cárie | 1,02 | 0,018 | 1,01 | 1,03 |
| G2 Er:YAG | 100mJ | 1,31 | 0,087 | 1,24 | 1,38 |
| | 200mJ | 1,19 | 0,068 | 1,13 | 1,24 |
| | 300mJ | 1,21 | 0,046 | 1,18 | 1,24 |
| | 400mJ | 1,19 | 0,058 | 1,15 | 1,23 |
| G3 Nd:YAG | 0,75W | 1,33 | 0,174 | 1,20 | 1,47 |
| | 1,0W | 1,16 | 0,070 | 1,11 | 1,21 |
| | 2,0W | 1,15 | 0,051 | 1,11 | 1,18 |
| | 3,0W | 1,14 | 0,053 | 1,10 | 1,18 |
| G4 Er:YAG+cárie | 100mJ | 1,30 | 0,184 | 1,16 | 1,43 |
| | 200mJ | 1,14 | 0,058 | 1,10 | 1,19 |
| | 300mJ | 1,18 | 0,071 | 1,13 | 1,23 |
| | 400mJ | 1,20 | 0,063 | 1,16 | 1,25 |
| G5 Nd:YAG+cárie | 0,75W | 1,43 | 0,105 | 1,34 | 1,52 |
| | 1,0W | 1,15 | 0,090 | 1,08 | 1,22 |
| | 2,0W | 1,13 | 0,038 | 1,10 | 1,15 |
| | 3,0W | 1,09 | 0,043 | 1,06 | 1,12 |
| G6 | Fresa | 1,11 | 0,029 | 1,08 | 1,13 |
| | Fresa+cárie | 1,12 | 0,061 | 1,08 | 1,16 |

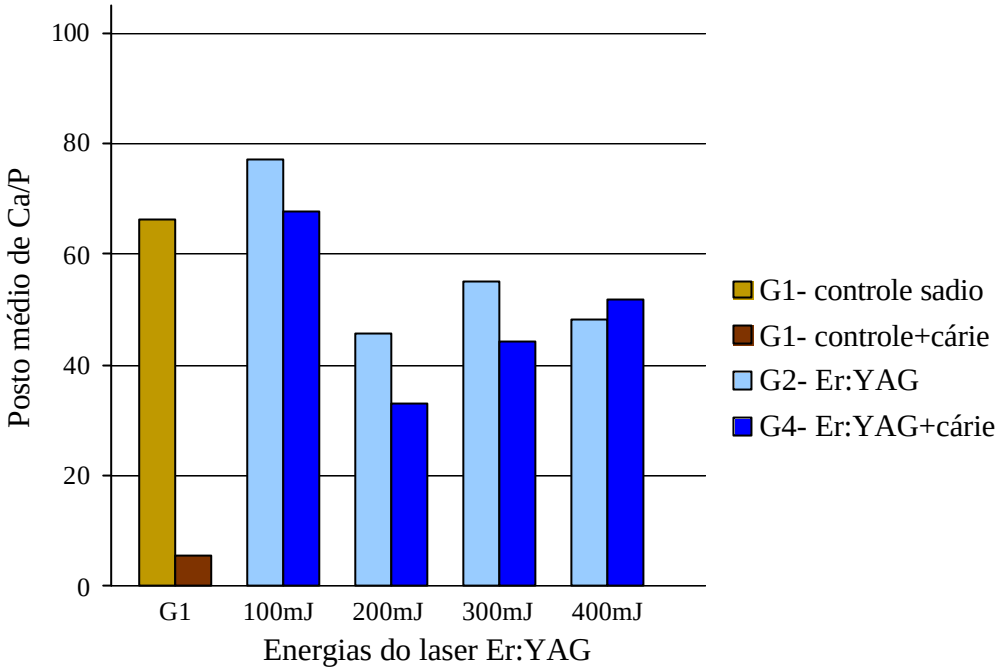



Gráfico A1. Postos médios das razões de porcentagens Ca/P para os grupos G1, G2 e G4.

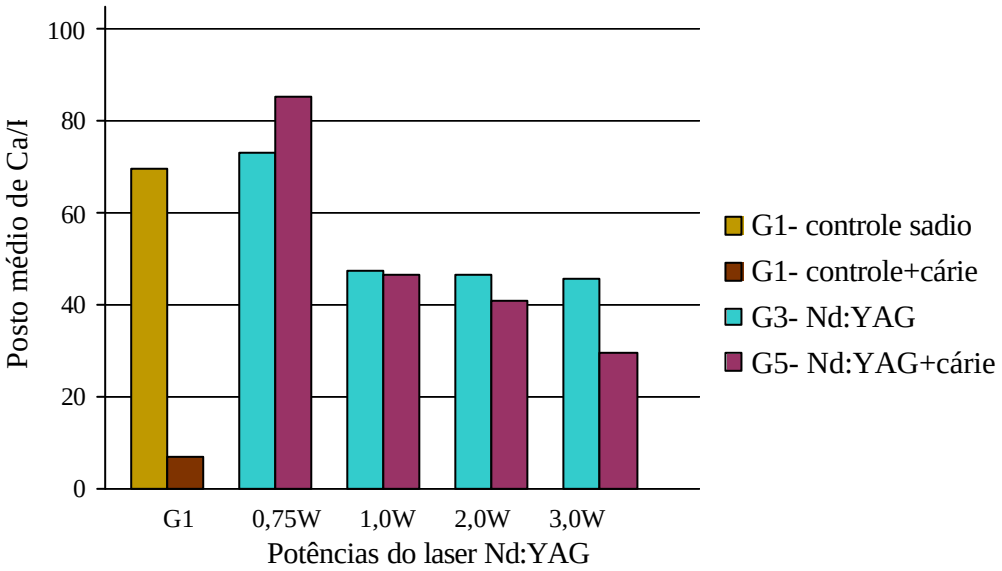



Gráfico A2. Postos médios das razões de porcentagens Ca/P para os grupos G1, G3 e G5.

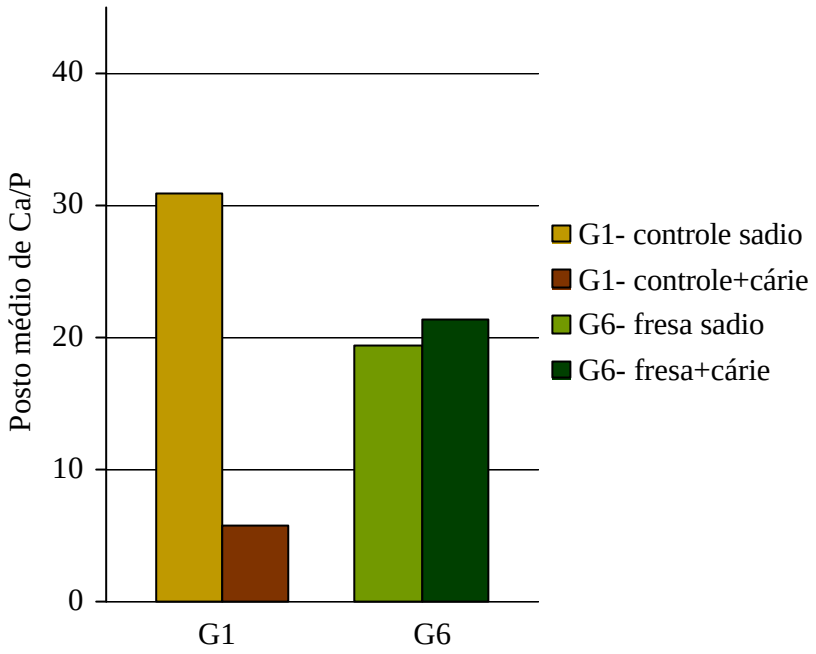



Gráfico A3. Postos médios das razões de porcentagens Ca/P para os grupos G1 e G6.

# Lista de Abreviaturas e Siglas

Er:YAG laser = Laser de érbio: ítrio-aluminio-granada.

Nd:YAG laser = Laser de neodímio: ítrio-aluminio-granada.

Hz =hertz

J = Joule (energia)

J/cm$^2$ = Joules por centímetro quadrado (densidade de energia)

MJ = miliJoules

μ = mícron

μs = microssegundo

ms = milissegundo

nm = nanômetro

μm = micrômetro

mm$^2$ = milímetro quadrado

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

Seg. = segundo

W = watt (potência)

pH = potencial hidrogeniônico

$^0$C = grau Celsius

EDX =espectometria de raios X por dispersão de energia

Ca = cálcio

P = fósforo

ANDRADE, L. E. H. *Resistência à cárie de esmalte dental irradiado por lasers de Er:YAG e Nd:YAG, avaliado através da morfologia e proporção Ca/P.* Araraquara, 2002. 119p. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

Quando se realiza um preparo cavitário, seja de forma convencional (fresa) ou com irradiação por lasers, existe o risco de danificar acidentalmente superfícies dentais adjacentes do próprio dente ou até de dentes vizinhos, o que poderia torná-las mais susceptíveis à formação de cárie. Desta forma, nos propusemos a avaliar "*In vitro*", através do estudo da morfologia e proporção Ca/P, a resistência à cárie de esmalte dental desgastado acidentalmente por fresa diamantada ou irradiado por dois tipos de laser Er:YAG e Nd:YAG. Os grupos experimentais foram: **G1**: controle sadio e controle+cárie ; **G2**: Er:YAG (100, 200, 300 ou 400mJ /10Hz /3seg.); **G3**: Nd:YAG (0,75, 1, 2 ou 3W /10Hz/ 3seg.); **G4**: Er:YAG mesmos parâmetros do G2 + cárie; **G5**: Nd:YAG mesmos parâmetros que o G3 + cárie; **G6**: fresa sadio e fresa+cárie. A indução de cárie foi realizada através do modelo dinâmico de Desmineralização e Remineralização. A análise morfológica foi realizada através do Microscópio Eletrônico de Varredura e a avaliação da proporção Ca/P, através de Espectrometria de Raios-X por Dispersão de Energia. Os resultados mostraram que houve alterações na morfologia do esmalte após ser danificado de forma acidental por fresa diamantada ou lasers de Er:YAG e Nd:YAG. No caso dos lasers, estas alterações se intensificaram a medida que os parâmetros de irradiação foram aumentando. Em função da proporção Ca/P, a pesar das

mudanças morfológicas observadas, todos os grupos apresentaram maior resistência à cárie do que o controle após o desafio cariogênico. Contudo, não podemos afirmar que tais alterações causadas acidentalmente ao esmalte, sejam benéficas para a resistência à cárie do mesmo, já que deverão ser considerados outros fatores que poderiam potencializar a formação de cárie.

**Palavras-chave**

Lasers - Suscetibilidade à cárie dentária

ANDRADE, L. E. H. *Caries resistance of lased human enamel with Er:YAG and Nd:YAG lasers. Morphologic and ratio of Ca/P analysis*. Araraquara, 2002. 119p. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

## Abstract

When a dental cavity is prepared by conventional techniques (diamond bur) or laser irradiation, always exists a risk to accidentally damage a neighbor surfaces, this would increase a susceptibility to caries formation. Then, we proposed to assess, *"in vitro"*, a caries resistance of dental enamel after application of diamond bur and lasers of Er:YAG and Nd:YAG; by analysis of morphologic characteristics and ratio of Ca/P. Experimental groups were: **G1:** sound control and control plus caries, **G2:** Er:YAG laser (100,200,300 and 400mJ/10Hz/3seconds), **G3:** Nd:YAG laser (0,75, 1, 2 and 3W/10Hz/3 seconds), **G4:** Er:YAG laser, same parameters than G2 plus caries, **G5:** Nd:YAG laser, same parameters than G3 plus caries, **G6:** sound/diamond and caries/diamond bur. A carious lesion was induced by a dynamic model of DES-RE process. Scanning Electron Microscope (SEM) was employed to observe morphologic changes and Energy Dispersive Spectroscopy EDX to assess a ratio of Ca/P. SEM evaluation shown morphologic alterations on enamel surfaces after a diamond bur and laser application, in the latest we noted an increased of these alterations when the irradiation parameters were raised. The findings observed in relation to ratio of Ca/P, shown that all groups were higher caries resistance than control group after a caries formation. Nevertheless, we can not assert that such

alterations been benefices to caries resistance, because is necessary consider others factors that could increase a caries susceptibility.

**Keywords**

Lasers - Dental carie susceptibility.