

INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ESTUDO IN VITRO DA FUSÃO DE HIDROXIAPATITA E ESMALTE
EM SUPERFÍCIES DE ESMALTE HUMANO PELO LASER DE
Nd:YAG**

MARCUS VINICIUS LUCAS FERREIRA

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de Mestre
Profissional em Lasers em Odontologia.

Orientadora
Dra. Denise Maria Zezell

SÃO PAULO
2000

INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ESTUDO IN VITRO DA FUSÃO DE HIDROXIAPATITA E ESMALTE
EM SUPERFÍCIES DE ESMALTE HUMANO PELO LASER DE
Nd:YAG**

MARCUS VINICIUS LUCAS FERREIRA

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de Mestre
Profissional em Lasers em Odontologia.

Orientadora
Dra. Denise Maria Zezell

SÃO PAULO
2000

Data da Defesa: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu Deus; “Ele que é meu escudo,
a força da minha salvação, meu baluarte,
O Senhor é meu rochedo, e meu libertador.”

A meu pai, pela sabedoria e força.

A minha mãe, mulher virtuosa e
exemplo de profissional.

A minha querida Mayra, pelo incentivo,
amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Denise Maria Zezell pela edificante orientação, apoio e amizade.

Ao Professor Dr. Nilson Dias Vieira Jr. pela maneira brilhante com que expôs a beleza do laser e da física durante o curso teórico.

Ao Professor Dr. Carlos de Paula Eduardo pelo apoio despendido ao Mestrado Profissionalizante em Lasers em Odontologia.

Ao Professor Dr. José Luiz Lage Marques

Ao Professores Drs. Armando Mirage, Niklaus Ursus Wetter e Edson Puig.

Às Professoras Dras. Martha Simões e Marta Vieira.

Aos colegas Lívio, Rubens e Débora pela amizade desenvolvida durante este período.

À Professora Vildete e a Faculdade de Farmácia da UFMG, pelo auxílio na parte experimental.

À MSc. Heloisa Gomes Dimiranda Boari.

Ào MSc. Luciano Bachman.

Aos colegas do Mestrado Acadêmico: Marcelo, Tarso, Walter, Patrícia, Andréa e Daniela.

Aos Professores e monitores do Mestrado Profissionalizante: MSc. José Pelino, MSc Edgar, MSc. Andréa, Ricardo, Patrícia e Claudia.

Ao Sr. Fernando Moreira pela eficiência na administração do Mestrado Profissionalizante.

Às secretarias: Sandra, Cida e Liliane.

Ao Celso, Nildemar e Renê pelo trabalho de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Ricardo pela hospedagem em São Paulo, apoio e conselhos.

Ao IPEN/CNEN-SP e FOUSP por toda a infra-estrutura utilizada na execução deste trabalho.

A todos os demais professores, colegas e amigos da FOU SP e do IPEN, que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho, o meu mais sincero reconhecimento.

**ESTUDO *IN VITRO* DA FUSÃO DE HIDROXIAPATITA E ESMALTE
EM SUPERFÍCIES DE ESMALTE HUMANO PELO LASER DE
Nd:YAG**

Marcus Vinicius Lucas Ferreira

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a fusão de hidroxiapatita e de esmalte junto ao esmalte dental através do efeito térmico ocasionado pela irradiação com o laser de neodímio (Nd:YAG). Este laser possui comprimento de onda de 1064nm e não é bem absorvido pela hidroxiapatita e pelo esmalte dental, por isso foi utilizado como foto-iniciador o carvão vegetal. Superfícies lisas de esmalte e superfícies oclusais foram recobertas com três diferentes substâncias: 1) hidroxiapatita misturada com carvão vegetal na proporção de 3:1 em peso; 2) pó de esmalte misturado com carvão vegetal na proporção de 3:1 em peso; 3) apenas carvão vegetal. Ao todo foram analisadas 15 superfícies lisas e 6 superfícies oclusais com o objetivo de verificar a fusão na superfície lisa assim como verificar o grau de selamento de sulcos e fissuras. O laser utilizado possui largura de pulso de 100 μ s e é transmitido através de uma fibra óptica com diâmetro de 300 μ m. Os parâmetros de irradiação foram: energia de 80mJ por pulso, taxa de repetição de 15Hz, gerando uma potência média de 1,2W., correspondendo a densidade de energia de 113,1J/cm². Todas as amostras foram submetidas à análise morfológica através de microscopia eletrônica de varredura. Os resultados das micrografias eletrônicas mostram que houve fusão nas superfícies dentais recobertas com o pó de esmalte tanto quanto nas superfícies recobertas com hidroxiapatita. O selamento completo de sulcos e fissuras através desta técnica não foi possível.

**IN VITRO STUDY OF HYDROXYAPATITE AND ENAMEL POWDER FUSED IN
HUMAN ENAMEL BY Nd:YAG LASER**

Marcus Vinicius Lucas Ferreira

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of pulsed Nd:YAG (1064nm) laser irradiation on hydroxyapatite and enamel powder fusion. This laser beam is not well absorbed by these two compounds for this reason they were mixed with vegetal coal to increase the absorption of the laser beam. Fifteen enamel flat surfaces and six occlusal enamel surfaces were prepared with three different substances: 1) hydroxyapatite mixed with vegetal coal (3:1 in weight); 2) enamel powder mixed with vegetal coal (3:1 in weight); 3) vegetal coal. The occlusal surfaces were utilized to determine if the compounds could seal pits and fissures. Flat surfaces were utilized to determine fusion of hydroxyapatite and enamel powder. All samples were irradiated with Nd:YAG laser with the parameters: 80mJ, 15Hz, 1.2W, 100µs pulse-width, 131.1J/cm². Laser beam was delivered to the samples with a 300µm diameter fiber optic. Morphology of the irradiated surfaces were examined by scanning electron microscopy (SEM). The compounds with hydroxyapatite and enamel powder were fused to enamel surfaces. Only partial pits and fissures sealing could be observed.

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	01
2) ETIOLOGIA E PREVENÇÃO DA CÁRIE DENTAL	03
3) LASERS EM ODONTOLOGIA	07
3.1) Laser	07
3.1.1 Introdução	07
3.1.2 Fibra óptica	08
3.1.3 Interação da luz laser com tecidos odontológicos duros	10
3.2) Laser em prevenção	14
3.2.1 Evolução do laseres em prevenção	14
3.2.2 Laser de argônio	17
3.2.3 Laser de excimer	19
3.2.4 Laser de érbio	20
3.2.5 Laser de hólmio	22
3.2.6 Laser de diodo	23
3.2.7 Laser de CO ₂	23
3.2.8 Laser de Nd:YAG	27
4) OBJETIVOS	35
5) MATERIAIS E MÉTODOS	36
5.1) Materiais	36
5.1.1 Características do laser	37
5.1.2 Preparo das substâncias irradiadas	37
5.2) Métodos	39
5.2.1 Distribuição das amostras	39
5.2.2 Irradiação das amostras	40
5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura	42

6) RESULTADOS	43
6.1 Micrografias eletrônicas de superfície lisa	43
6.2 Micrografias eletrônicas de superfície oclusal	45
7) DISCUSSÃO	73
8) CONCLUSÕES	81
9) ANEXOS: Aprovação dos comitês de ética em pesquisas em seres humanos da FOUSP e IPEN	82
10) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Distribuição das amostras 40

TABELA 2 - Análise de relevo das amostras em menor aumento 45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Esquema representativo da evolução da cárie oclusal	4
Figura 2. Constituição da Fibra Óptica	9
Figura 3. Molécula de Hidroxiapatita	11
Figura 4. Espectro de Absorção da Hidroxiapatita, H ₂ O e outros cromóforos	11
Figura 5. Mecanismos de Interação Laser-Tecido.	16
Figura 6. Análise dimensional da hidroxiapatita micromizada	38
Figura 7. Análise dimensional do esmalte micromizado.	38
Figura 8. Análise dimensional do carvão micromizado.	39
Figura 9. Parâmetros utilizados na irradiação das amostras	41
Figura 10. Micrografia de superfície lisa de esmalte não irradiada. Observa-se a superfície plana e lisa, com alguns riscos e pequenos buracos.	47
Figura 11. Micrografia de superfície lisa de esmalte não irradiada. Observa-se a superfície plana e lisa, com alguns riscos e pequenos buracos.	48
Figura 12. Micrografia de superfície lisa de esmalte não irradiada. Observa-se a superfície plana e lisa, com alguns riscos e pequenos buracos.	48
Figura 13. Micrografia de superfície lisa de esmalte irradiada com laser de Nd:YAG.	49
Figura 14. Micrografia de superfície lisa de esmalte irradiada com laser de Nd:YAG.	49
Figura 15. Micrografia de superfície lisa de esmalte irradiada com laser de Nd:YAG.	50
Figura 16. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	50
Figura 17. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	51
Figura 18. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	51

Figura 19. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	52
Figura 20. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	52
Figura 21. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	53
Figura 22. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	53
Figura 23. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	54
Figura 24. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	54
Figura 25. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	55
Figura 26. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	55
Figura 27. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	56
Figura 28. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	56
Figura 29. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	57
Figura 30. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	57
Figura 31. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.	58
Figura 32. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.	58
Figura 33. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.	59
Figura 34. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.	59
Figura 35. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.	60

Figura 36. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	60
Figura 37. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	61
Figura 38. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	61
Figura 39. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	62
Figura 40. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	62
Figura 41. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	63
Figura 42. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	63
Figura 43. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	64
Figura 44. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	64
Figura 45. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	65
Figura 46. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	65
Figura 47. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	66
Figura 48. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	66
Figura 49. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	67
Figura 50. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	67
Figura 51. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	68
Figura 52. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.	68

Figura 53. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	69
Figura 54. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	69
Figura 55. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	70
Figura 56. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	70
Figura 57. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	71
Figura 58. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.....	71
Figura 59. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser Nd:YAG.....	72
Figura 60. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de :Nd :YAG.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IPEN/CNEN-SP.....	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Comissão Nacional de Energia Nuclear – São Paulo
FOUSP.....	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
LELO	Laboratório Experimental de Lasers em Odontologia
CLA.....	Centro de Lasers e Aplicações
CCTM.....	Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais
FDA.....	Food and Drugs Administration
MASER.....	Micro-wave Amplification by Stimulated Emission Radiation
He-Ne.....	hélio - neônio
Nd.....	neodímio
Er	érbio
Ho	hólmium
Ar.....	argônio
F.....	flúor
Xe.....	xenônio
Cl	Cloro
Cr.....	Cromo
CO ₂	dióxido de carbono
Ca	cálcio
P	fósforo
O	oxigênio
OH ⁻	hidroxila
pH	potencial hidrogênioônico
2YAG	Yttrium Aluminum Garnet
YSGG.....	Yttrium Scandium Gallium Garnet
J.....	joule
mJ.....	milijoule

2E	energia
P	potência
T	temperatura
°C.....	graus Celsius
f.....	freqüência
λ	comprimento de onda
μm	micrômetro
nm.....	nanômetro
W.....	watts
KW.....	kilowatts
s	segundo
μs	microsegundo
mm.....	milímetro
nm.....	nanômetro
cm.....	centímetro
J/cm^2	joule por centímetro quadrado
Hz.....	hertz

1. INTRODUÇÃO

O laser é um advento que está presente no dia a dia de grande parte da população do nosso planeta. Dos laboratórios de física mais modernos do mundo para as mais diversas finalidades, este equipamento vem se tornando uma ferramenta de grande auxílio para a humanidade. No meio industrial, o laser já é considerado um aparato essencial para o desenvolvimento de certos equipamentos eletro-eletrônicos, sendo seu papel neste meio equiparado ao da mecanização para a revolução industrial no século XIX.

No meio médico, várias são as especialidades que utilizam o laser como instrumento clínico, cirúrgico ou terapêutico. Na odontologia não poderia ser diferente. Em todas as especialidades clínicas, o laser pode ser utilizado como coadjuvante ou como instrumento único na realização de procedimentos relacionados à prática odontológica. O fator econômico, envolvido na aquisição destes equipamentos, ainda é uma barreira no que tange a sua maior utilização por meio dos profissionais. A exceção ocorre para os lasers de diodo de baixa intensidade já são bem acessíveis economicamente. Estes últimos lasers ainda não têm autorização para utilização clínica por parte do FDA (órgão governamental americano que controla medicamentos e equipamentos da área de saúde), mas já são amplamente utilizados na Europa, Japão e Canadá.

A disponibilidade de lasers de alta potência, para serem utilizados em laboratórios e universidades, tem permitido o desenvolvimento de novas aplicações clínicas para estes equipamentos. Esta dissertação busca desenvolver um processo de fusão de hidroxiapatita e de esmalte através do efeito térmico provocado pela irradiação do laser de neodímio sobre estas substâncias. A fusão da hidroxiapatita pode, no futuro, servir como material selador de sulcos e fissuras, tornando-se assim, um novo processo na prevenção da cárie dental.

Os efeitos do laser de neodímio em esmalte humano sejam em superfície lisa, sejam em sulcos, vem sendo estudado desde a década de 70¹. Os resultados científicos dessas pesquisas vieram contribuir para o avanço da odontologia, principalmente no que tange à prevenção da cárie dental. Benefícios como o aumento da resistência do esmalte dental frente ao ataque ácido das bactérias cariogênicas, aumento da incorporação de íons flúor pelo esmalte dental (quando da associação das duas técnicas – vide capítulo 3), são até o momento, as principais contribuições das pesquisas nesta área.

O presente trabalho visa contribuir com inovações na linha de pesquisa em prevenção de cáries, utilizando a hidroxiapatita extrínseca sintética, ou o próprio esmalte dental micromizado, como potenciais materiais seladores de sulcos e fissuras. A partir dos resultados das alterações morfológicas apresentadas nesse trabalho, outras pesquisas complementares poderão viabilizar a restauração de dentes através da fusão da hidroxiapatita.

Todas as pesquisas e análises das alterações morfológicas através da microscopia eletrônica de varredura dos espécimes irradiados foram realizadas nas dependências do CLA/IPEN, CCTM/IPEN e do L.E.L.O. dentro do campus da USP. Este intercâmbio tem possibilitado o desenvolvimento de novos lasers e de novas aplicações clínicas do laser na odontologia, não se restringindo à uma determinada especialidade, mas contribuindo para integrar o laser em toda a prática odontológica.

2. ETIOLOGIA E PREVENÇÃO DA CÁRIE DENTAL

A superfície oclusal dos dentes posteriores é, sem dúvida alguma, uma das regiões mais prováveis de se encontrar lesões cariosas. A alta incidência de cárie nestas superfícies está diretamente relacionada com a anatomia dessa região. Na face oclusal dos dentes posteriores, encontramos inúmeros sulcos e fissuras, que são estreitos e inacessíveis, impedindo assim a higienização completa desta região, com subsequente acúmulo de placa bacteriana e formação de lesões cariosas (Figura 1). Geralmente a cárie oclusal inicia-se em locais onde os acúmulos bacterianos recebem melhor proteção contra o desgaste funcional. Dois fatores são considerados importantes para que ocorra o acúmulo de placa e o início de cárie oclusal, o primeiro é o estágio de erupção ou uso funcional dos dentes e o segundo é a anatomia específica destes².

A microcavidade formada na parte mais profunda dos sulcos e fissuras oclusais oferece condições favoráveis para o alojamento e crescimento das bactérias orais. Isto acelera a desmineralização do esmalte, formando uma cavidade maior e com mais bactérias. Uma vez que não existe desgaste físico, e que a higienização desta região é muito difícil de ser realizada, o processo tende somente a aumentar. O início de lesões de cárie em fissuras de molares permanentes pode ocorrer logo no primeiro ano após sua erupção³. Portanto a intervenção profissional, com o intuito de selar estes sulcos, deve ser realizada, sempre que possível, logo após a erupção dos dentes permanentes.

A cárie é uma doença multifatorial, e, por isso, é evidente que a anatomia oclusal não é o único fator que determina a sua ocorrência. Outros fatores como dieta, quantidade de fluxo salivar, composição da saliva, higiene oral e concentração de flúor irão determinar o desenvolvimento das lesões de cárie. Cada indivíduo apresenta um padrão diferente na atuação dos fatores descritos, portanto, durante o tratamento preventivo, deve-se identificar corretamente as

deficiências deste paciente, que propiciarão a atividade cariogênica. Visando prevenir o desenvolvimento de tais lesões, deve-se atuar em um ou mais desses fatores identificados.

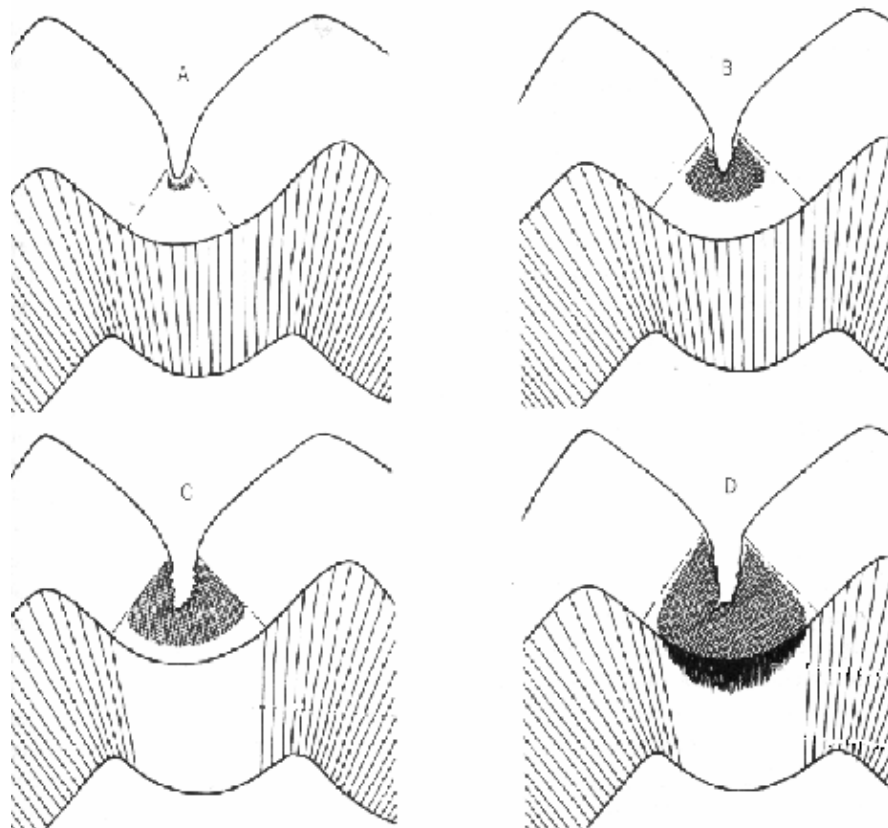


Figura 1 Esquema representativo da evolução da cárie oclusal

Para prevenir o desenvolvimento da cárie, existem vários tipos de terapias que podem ser associadas umas às outras, de acordo com as deficiências do paciente. Basicamente, a diminuição da quantidade de placa bacteriana pode ser feita pela associação de uma melhor técnica de escovação e do aumento da frequência desta.

Agentes químicos também podem e devem ser utilizados para diminuir a atividade metabólica ou a adesão das bactérias à placa bacteriana⁴, citados como por exemplo, a clorexidina, o triclosan e o dodecissulfato de sódio (DSS).

As aplicações tópicas de flúor são de extrema importância no processo de prevenção ou de tratamento de lesões iniciais de cárie. O uso desta terapia promove resultados positivos em torno de vinte a quarenta por cento dos pacientes tratados⁵. No âmbito clínico, podem ser feitas aplicações periódicas na forma de gel ou de verniz. O paciente também pode utilizar soluções para bochechos, de uso domiciliar, diariamente ou semanalmente, dependendo da indicação profissional.

Além dos métodos químicos, existe a possibilidade de aplicação de métodos físico-mecânicos para redução da adesão de bactérias em nichos naturais da cavidade oral, como os sulcos e fissuras oclusais. Como foi citado anteriormente, diferenças na anatomia oclusal podem contribuir para uma maior incidência de cárie em determinados indivíduos. A obliteração de sulcos e fissuras mais profundos e retentivos, através de selantes resinosos ou ionoméricos, são os dois métodos de selamento mais difundidos e aplicados atualmente. O nivelamento da morfologia da superfície oclusal original através destes selantes previne o acúmulo de biomassas microbianas com potencial cariogênico e, conseqüentemente, as lesões de cárie nestes nichos. O sucesso deste tratamento depende da habilidade do profissional em manter um bom controle de umidade do campo operatório, uma vez que estes materiais têm sua retenção comprometida na presença de saliva⁴.

A dieta também é um fator de prevenção, e está intimamente ligada ao desenvolvimento da cárie. Dietas ricas em sacarose são altamente cariogênicas, por ser esta o principal substrato utilizado pelos *Streptococcus mutans* na formação de ácido e subsequente queda do pH no ambiente da placa dental. O *S. mutans* é um dos principais patógenos associados às lesões de cárie².

Além da concentração de sacarose na dieta, a frequência de ingestão deste carboidrato constitui um fator crítico no desenvolvimento de cáries.

Recomenda-se ao paciente com atividade de cárie que ele diminua ingestão de alimentos ricos em sacarose no período entre as principais refeições⁶.

A saliva exerce uma função importante na manutenção de um equilíbrio saudável entre os tecidos do hospedeiro e a microbiota oral. Uma das principais funções da saliva, neste sentido, é manter o pH da cavidade oral estável, o que é denominado de capacidade tampão.

Outro aspecto determinante na formação de lesões de cárie, relativo a saliva, é o fluxo com que esta é secretada na cavidade oral. Reduções no fluxo salivar diminuem as forças mecânicas e a lubrificação da saliva, aumentando o tempo de retenção dos alimentos na boca⁷.

O laser começou a ser pesquisado em prevenção de cáries na década de 60⁸. Desde então tem sido discutida a sua capacidade de modificar as estruturas de esmalte e de dentina, sejam estas mudanças físicas ou químicas. Este assunto será amplamente abordado no próximo capítulo, abrangendo os lasers mais utilizados na prevenção da cárie dental.

3. LASER EM ODONTOLOGIA

3.1 Laser

3.1.1 Introdução

A descrição completa e profunda dos conceitos envolvidos na geração da radiação laser e na tecnologia laser não é objeto da presente dissertação. Contudo, este tema será brevemente abordado, possibilitando o entendimento do desenvolvimento do laser na odontologia e, principalmente, na prevenção a cárie dental. Para aqueles que se interessarem e por literatura a este respeito, recomendo as obras de Maillat⁹, Garavaglia¹⁰ e Svelto¹¹

A definição da palavra LASER vem do inglês, “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation”, ou no português, “Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação”.

O laser é um emissor de radiação coerente e consiste basicamente de um meio ativo excitado, convenientemente, e confinado em uma cavidade ressonante. A radiação coerente é obtida mediante a amplificação da luz devido ao processo de emissão estimulada de radiação, processo este proposto originalmente por Einstein¹² em 1917, com o intento genial de interpretar microscopicamente a radiação do corpo negro¹⁰.

O primeiro aparato de amplificação de radiação por emissão estimulada foi construído em 1955¹³. Este dispositivo experimental emitia radiação na região de microondas de espectro eletromagnético ($1\text{mm} < \lambda < 30\text{cm}$), e foi denominado “MASER”. Mas o primeiro laser só foi desenvolvido em 1960 quando Maiman¹⁴

desenvolveu um laser com cristal de rubi sintético excitado por descargas curtas e intensas provenientes de uma lâmpada flash.

Nesse mesmo ano de 1960, Javan¹⁵ et al construíram o primeiro laser gasoso de emissão contínua. Uma mistura de He-Ne foi utilizada como meio ativo, e era excitada por rádio frequência e confinada num interferômetro de Fabry-Perot. Esse laser emitiu radiação na região do infravermelho próximo, com comprimento de onda em torno de 1100 nm.

Em 1964, Patel¹⁶ desenvolveu um laser de CO₂, com emissão de um feixe contínuo de aproximadamente 200W de potência e comprimento de onda de 10.6µm. Nesse laser, o meio ativo era constituído por um tubo contendo CO₂ puro, que era excitado por descargas elétricas.

A partir daí, vários lasers foram desenvolvidos, como os da família de terras raras (neodímio, érbio, hólmio, túlio), e outros como argônio, diodos, lasers de corantes, de excimer, vapor de cobre, alexandrita e criptônio.

3.1.2 Fibra Óptica

A fibra óptica é um meio de entrega de feixes luminosos. Na odontologia, ela possibilita de maneira muito prática, o acesso da radiação laser aos tecidos da cavidade oral. A principal função das fibras ópticas é transportar energia de uma fonte a um receptor ou alvo.

A fibra óptica é constituída por um núcleo ou *core*, por um revestimento ou *cladding* e uma capa de plástico protetora ou *coat* (Figura 2). O princípio físico que permite que a luz seja transportada através da fibra é a reflexão total. Este fenômeno ocorre quando um feixe de luz é transmitido de um meio mais denso para um meio menos denso. O termo densidade é usado aqui para que se entenda melhor o fenômeno, porém o termo cientificamente correto é viscosidade óptica. Conclui-se então, que a velocidade da luz no revestimento é

necessariamente maior do que no núcleo da fibra, uma vez que esse é mais denso do que o revestimento.¹⁷

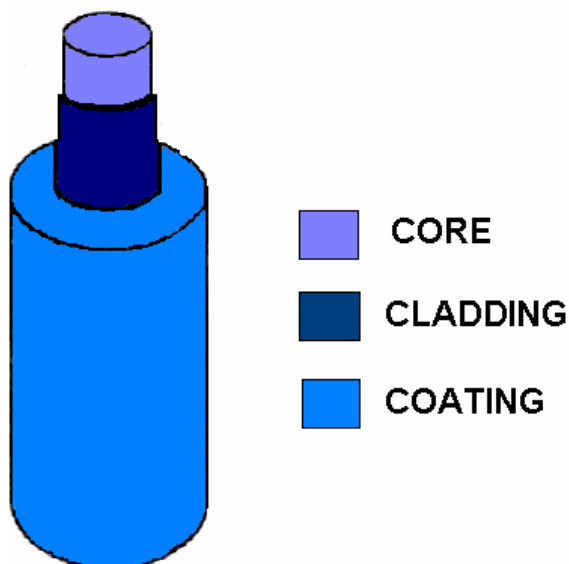


Figura 2. Constituição da Fibra Óptica

A velocidade da luz dentro da fibra é controlada através da modificação química do material fundido, neste caso específico, o quartzo. Aditivos químicos são utilizados durante o processo de fabricação da fibra para aumentar a viscosidade óptica deste meio¹⁷.

Apesar da fibra de quartzo conduzir bem a luz, comprimentos de onda maiores que 2500nm não podem ser transmitidos por esta fibra. Nesta faixa do espectro óptico, a fibra de quartzo absorve a radiação laser, promovendo a deterioração da mesma. Outros materiais, que não o quartzo, devem ser utilizados para a condução de comprimentos de onda maiores que 2500nm. Diferentes meios de entrega de feixe também podem ser utilizados, como os guias de onda ocos (por reflexão interna); ou braços articulados, onde a condução é feita através da reflexão por espelhos.

O feixe laser produzido pelo neodímio tem a grande vantagem de poder ser transmitido por uma fibra óptica de quartzo. Este tipo de fibra óptica permite que o feixe laser seja manuseado com maior facilidade pelo operador e é economicamente mais acessível do que as fibras cristalinas.

Toda vez que um laser conduzido por fibra é utilizado em uma aplicação clínica em contato com o tecido, existe uma queima da fibra que ocorre na extremidade final desta, ocasionada por absorvedores aderidos nesta superfície, como materiais orgânicos ou outros pigmentos. Por isso entre as aplicações, a fibra tem que ser clivada ou polida, para que a parte danificada seja eliminada, havendo maior aproveitamento do feixe transmitido.

3.1.3 Interação da luz Laser com tecidos odontológicos duros

O laser em prevenção de cáries irá interagir basicamente com o esmalte dental, e em alguns casos como na prevenção de cáries de raiz, com a dentina. O esmalte é o tecido mais mineralizado conhecido, consistindo de cerca de 96% de mineral, suportado por apenas 4% de material orgânico e água (por peso). O conteúdo inorgânico do esmalte consiste basicamente de fosfato de cálcio cristalino, a hidroxiapatita (Figura 3) A dentina constitui o maior volume do dente e compõe-se de aproximadamente 70% de substância inorgânica, 20% de substância orgânica e 10% de água (por peso).¹⁸ .

A hidroxiapatita é um mineral que possui bandas de absorção no ultravioleta, em 2.9 μ m, 7.9 e 9.6 μ m. O laser de neodímio opera em 1.064 μ m, sendo assim, a hidroxiapatita não absorve bem este comprimento de onda. Outros lasers, como o laser de érbio, o laser de CO₂ pulsado e o laser de excimer ArF são muito bem absorvidos por este material, uma vez que operam, respectivamente, em 2.94 μ m , 9.6 μ m e 0.193 μ m (Figura 4).

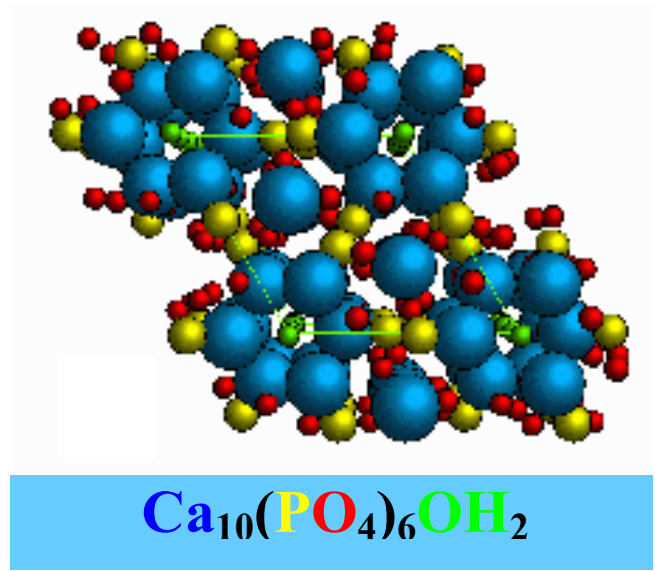


Figura 3. Molécula de Hidroxiapatita

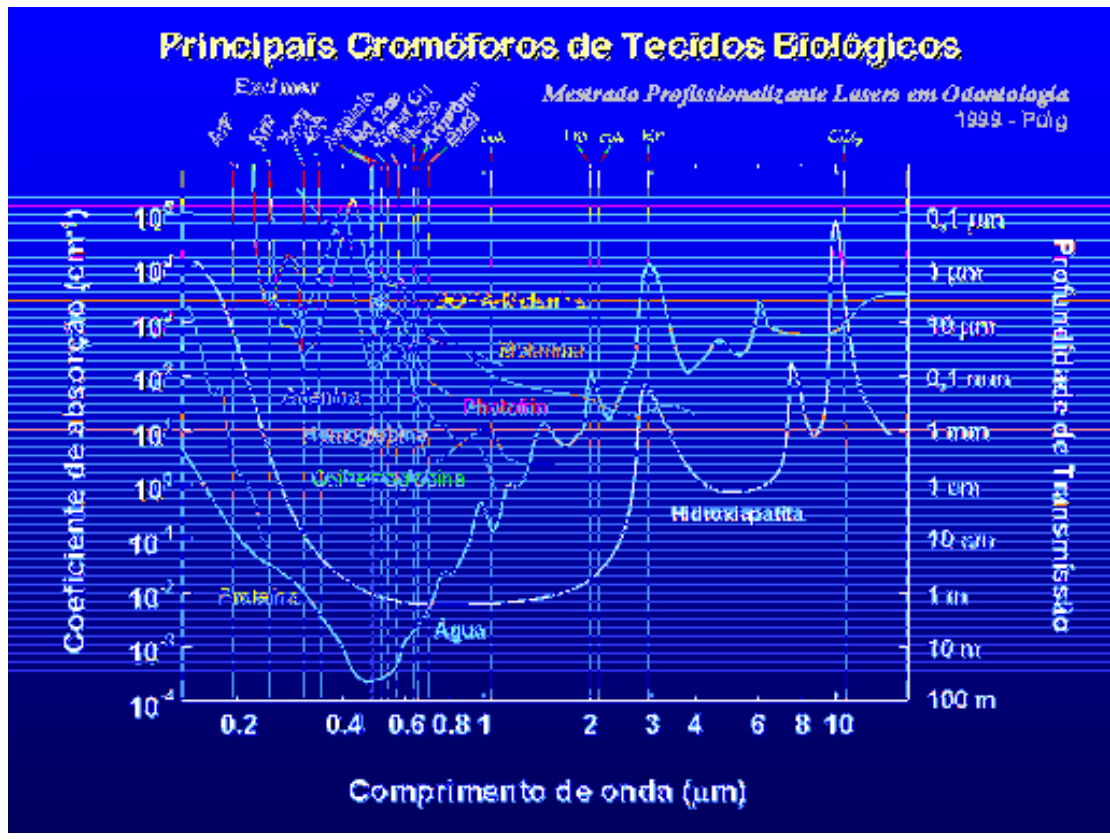


Figura 4. Espectro de Absorção da Hidroxiapatita, H₂O e outros cromóforos.

A pouca absorção do comprimento de onda do laser de Nd:YAG pela hidroxiapatita pode ser compensada pela adição de um foto-iniciador. O foto-iniciador deve ser um material com pigmento escuro, que pode ser líquido ou sólido. A tinta nanquim é um iniciador líquido amplamente usado na técnica de irradiação de sulcos oclusais pelo laser de Nd:YAG¹⁹. Um fator negativo do uso do nanquim em esmalte, é que este iniciador fica impregnado na estrutura dental permanentemente, fato que não é esteticamente aceito pelas pessoas em geral.

Neste experimento será usado um foto-iniciador sólido, o carvão vegetal micromizado. Esse material apresenta fácil remoção, não escurecendo tanto os dentes como a tinta nanquim.

Segundo Keller & Hibst²⁰, uma temperatura de 700°C é suficiente para provocar a fusão da hidroxiapatita. A fusão do esmalte gera uma superfície irregular, semelhante a um mosaico, com aspecto vitrificado e formação do tipo de bolhas. Estudos *in-vitro* e *in-vivo* têm demonstrado que esta superfície irradiada é mais ácido-resistente do que o esmalte não irradiado.

No início das pesquisas com laser em esmalte, os cientistas constataram que o esmalte tornava-se mais ácido resistente, mas eles não tinham uma explicação dos mecanismos que causavam este efeito. Stern et al.²¹ propuseram que a redução da permeabilidade térmica do esmalte provocaria maior resistência do esmalte aos ácidos. Outros pesquisadores como Yamamoto & Sato^{22,23} também foram seguidores dessa teoria. Entretanto Borggreven et al.²⁴ concluíram que a permeabilidade do esmalte bovino aumentava quando este era irradiado com laser de CO₂. Os autores chegaram a esta conclusão através de mensurações diretas do transporte de componentes iônicos e não iônicos através das amostras. Este aumento de permeabilidade permite um ganho maior na incorporação de flúor pelo esmalte fusionado, o que torna o esmalte menos solúvel na presença de ácidos.

Hoje em dia existe uma proposição de que o calor, gerado da absorção do laser de CO₂ (9,6µm) pelo esmalte dental, causa uma decomposição térmica dos

cristais de apatita carbonada, gerando um composto menos solúvel. Este fenômeno é dependente do comprimento de onda utilizado. A maior perda de carbonato $(\text{CO}_3)^{-2}$, ocorre quando o esmalte é irradiado com o comprimento de onda de $9.6\mu\text{m}$ e densidade de potência de $4\text{J}/\text{cm}^2$ ^{25,26}.

Os estudos com o laser de CO_2 pulsado contribuíram bastante para o entendimento do mecanismo pelo qual o esmalte se torna mais ácido resistente. Os coeficientes de absorção para os comprimentos de onda $9.3\mu\text{m}$, $9.6\mu\text{m}$, $10.3\mu\text{m}$, $10.6\mu\text{m}$ são, respectivamente, 18.500cm^{-1} , 30.000cm^{-1} , 6500cm^{-1} , 5000cm^{-1} . Estes valores indicam que ocorre uma transformação eficiente da luz em calor quando o esmalte é irradiado com o laser de CO_2 pulsado. A diferença desses coeficientes de absorção explica a necessidade de usar apenas um quinto da energia utilizada em $9.6\mu\text{m}$ para produzir o mesmo efeito de inibição de cáries quando se utiliza o comprimento de $10.6\mu\text{m}$. Sendo assim, a transformação da luz em calor pelo laser de CO_2 é mais eficiente em $9.3\mu\text{m}$ e $9.6\mu\text{m}$. Além do coeficiente de absorção, outro fenômeno tem que ser analisado é a reflectância do esmalte em relação aos diferentes comprimentos de onda. Em $9.6\mu\text{m}$ aproximadamente 50% da energia é refletida, enquanto em $10.6\mu\text{m}$ isto ocorre por volta dos 10%²⁷. Um efeito inibitório comparável pode ser obtido com $25\text{mJ}/\text{pulso}$ de energia incidente em $9,6\mu\text{m}$ e com $200\text{mJ}/\text{pulso}$ em $10,6\mu\text{m}$. Vale a pena salientar que valores elevados de energia por pulso (200mJ para $9,6\mu\text{m}$), causam danos à superfície, que são detrimenais, acarretando menor resistência destas aos ácidos.

A perda de carbonato é evidente quando modificações térmicas são induzidas pelo Laser de CO_2 de $9.6\mu\text{m}$ e fluência de $1\text{J}/\text{cm}^2$. Nestas circunstâncias, a temperatura excede 800°C e decompõe as estruturas carbonadas em dióxido de carbono, formando assim uma estrutura mineral menos solúvel. Acredita-se que, durante esse aumento de temperatura, caso haja flúor incorporado ao esmalte, este será fundido junto com as camadas cristalinas do esmalte, ressolidificando-se em uma nova estrutura, a fluorapatia²⁸

Dados recentes de pesquisas realizadas em dentina irradiada pelo laser de neodímio Q-switched, concluem que a formação de cristais de hidroxiapatita maiores e com menor quantidade de CO_3 justificaria a maior resistência desta dentina aos ácidos e a conseqüente maior resistência à formação de cáries²⁹

3.2 Laser em prevenção

3.2.1 Evolução dos lasers em prevenção

As pesquisas do laser em odontologia sempre estiveram próximas do desenvolvimento de novos equipamentos, ou seja, toda vez que um novo equipamento era desenvolvido, os pesquisadores não demoravam muito para testá-lo, quer fossem em tecidos duros ou moles.

Os pesquisadores pioneiros do laser na odontologia foram Stern & Sognaes⁸. Eles utilizaram o laser de rubi (693,4 nm) em esmalte dental. A exposição deste tecido a um pulso único, com duração de 1 milissegundo e com potência variando entre 500Jc/m^2 e 2000Jc/m^2 , resultou na formação de crateras, na qual o esmalte apresentava-se fundido e vitrificado. Quando da irradiação da dentina sob as mesmas condições, foram observadas crateras maiores e carbonização aparente.

Apesar desses indícios iniciais, o uso do laser de rubi na odontologia mostrou-se inadequado. O seu uso resultava em um acentuado dano térmico à polpa dental com o desenvolvimento de necrose hemorrágica, destruição odontoblástica e dano a tecidos e dentes vizinhos³⁰.

O laser de CO_2 de emissão contínua, desenvolvido em meados da década de 60, passou a ser amplamente utilizado nas pesquisas, devido ao fato do seu comprimento de onda - $10.6\ \mu\text{m}$ - ser bem absorvido pelo esmalte dental. Este fato indicaria a sua utilização no selamento de sulcos, fissuras e na prevenção da cárie dental, condicionado à verificação de eventuais danos térmicos à polpa

dental. Por ser um equipamento pioneiro e que muito evoluiu durante o passar dos anos, esta seção abordará esse processo até a atualidade.

Em 1966, Lobene & Fine³¹ sugeriram que o laser de CO₂ (10.6µm) poderia eliminar sulcos e fissuras para reduzir cáries oclusais, transformando pequenas quantidades de hidroxiapatita em ortofosfato de cálcio insolúvel (menos permeável e mais resistente). Nesse estudo, a cristalização perfeita da superfície não foi possível para eliminar completamente os sulcos e fissuras.

Vários cientistas chegaram à conclusão de que o uso do Laser de CO₂ promove o aumento da resistência do esmalte à ação dos ácidos, sugerindo a possibilidade de sua utilização em prevenção de cárie dental^{32,21}. A hidroxiapatita absorve a radiação desse laser, ocorrendo uma interação térmica (Figura 5) capaz de gerar transformações físico-químicas na estrutura dental. A hidroxiapatita é um mineral que possui bandas de absorção no ultravioleta, em 2.9µm, 7.9 e 9.6µm. O laser de neodímio opera em 1.064µm, sendo assim, a hidroxiapatita não absorve bem este comprimento de onda. Outros lasers, como o laser de érbio, o laser de CO₂ pulsado e o laser de excimer ArF são muito bem absorvidos por este material, uma vez que operam, respectivamente, em 2.94µm, 9.6µm e 0.193µm (Figura 4).

Novos lasers de CO₂ foram desenvolvidos, buscando-se outros comprimentos de onda de emissão e outros regimes de operação. Hoje existem equipamentos que operam no regime pulsado e emitem comprimentos de onda de 9.3µm, 9.6µm, 10.3µm e 10.6µm. Com o advento desses equipamentos, muito se progrediu na tentativa de se obter o selamento de fissuras oclusais, pois a absorção da hidroxiapatita e da água, que são os dois principais componentes do esmalte, por esses diferentes comprimentos de onda não são iguais, assim como os efeitos ocasionados. As pesquisas mais atuais utilizam o laser de CO₂ emitindo pulsos da ordem de microsegundos, com comprimento de onda de 9,6µm, por ser este mais bem absorvido pela hidroxiapatita, como pode ser visualizado na figura 4.

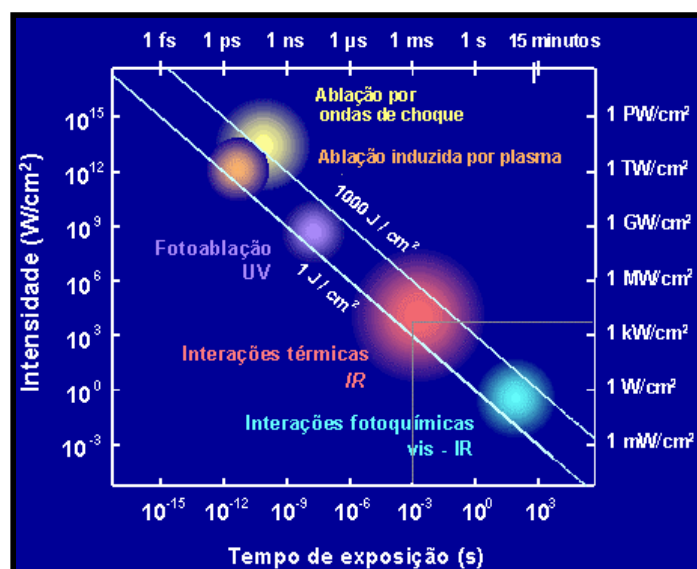


Figura 5. Mecanismos de Interação Laser-Tecido.

A idéia de fundir hidroxiapatita em esmalte, pelo uso do laser não é muito recente. Em 1985, Stewart et al., utilizando um Laser de CO₂, operando no modo contínuo e com 10.6 μm de comprimento de onda, conseguiu fundir hidroxiapatita em sulcos oclusais³³. Os autores concluíram ser esta técnica útil para o selamento de sulcos e fissuras.

Outros lasers foram amplamente utilizados em pesquisas na área de prevenção à cárie dental. Na década de 70, o laser de neodímio e o laser de argônio surgiram como novas alternativas de comprimentos de ondas para irradiação de esmalte.

A grande vantagem do laser de neodímio e do laser de argônio, e um dos fatores que determinaram o uso destes em prevenção, é a possibilidade de ser conduzido por fibra óptica de quartzo. A fibra óptica possibilitou o fácil acesso do comprimento de onda desses lasers nos sulcos e fissuras dos dentes na cavidade oral. Além disto, a fibra óptica já era uma tecnologia bastante conhecida na década de 70, devido o seu uso em telecomunicações, não havendo dificuldade para a interação do seu uso em equipamentos de laser.

Outros lasers usados em pesquisas de prevenção são o laser de excimer, o laser de érbio, o laser de hólmio e o laser de diodo. Entretanto, os dois tipos de lasers mais amplamente estudados em prevenção e os que têm mais publicações nesta área, são o CO₂ e Nd:YAG.

3.2.2 Laser de argônio

O laser de argônio opera na região visível do espectro óptico, emitindo dois comprimentos de onda principais, 488nm ou 514nm. Goodman & Kaufman foram os primeiros a investigar o uso do laser de argônio em prevenção. Em 1977, eles irradiaram pó de esmalte misturado com fluoreto de sódio - NaF, e verificaram que o esmalte obtivera maior incorporação de flúor do que o grupo controle, que não foi irradiado. Após esta observação, os autores irradiaram incisivos na presença de NaF e observaram que a perda de cálcio e fósforo após imersão em acetato de sódio (pH 4.0) era significativamente menor do que o grupo controle³⁴.

Na tentativa de aumentar a absorção e diminuir a reflexão do laser pelo esmalte, Oho e Morioka utilizaram em 1987 pigmentos foto-iniciadores de cor preta e vermelha³⁵. A camada de esmalte ácido resistente criada pela irradiação do laser de argônio, quando o iniciador preto era utilizado, era de aproximadamente 144µm. Para o iniciador vermelho, a camada ficava em torno de 59µm. A densidade de energia utilizada nos experimentos foi de 67J/cm².

O laser de argônio é considerado seguro para ser usado em esmalte humano. Desde que seja usada uma correta densidade de energia, não ocorrerá dano pulpar ou nas estruturas do esmalte irradiado³⁶.

Flaitz et al. analisaram em 1995 a ação conjunta do laser de argônio e do flúor fosfato acidulado na formação de cáries em esmalte humano³⁷. Eles utilizaram densidade de energia de 100J/cm². As amostras foram separadas em quatro grupos; aplicação de flúor, laser antes da aplicação de flúor, laser depois da aplicação de flúor, e um grupo controle onde nenhum tipo de procedimento foi

realizado. O melhor resultado obtido foi da aplicação do laser antes da aplicação de flúor. Neste grupo houve decréscimo na profundidade da lesão em mais de 50%, comparando-se com o grupo controle.

Em 1996, Westerman et al analisaram a morfologia de superfície de esmalte irradiada com laser de argônio em duas densidades de energia, $11,5\text{J}/\text{cm}^2$ e $100\text{J}/\text{cm}^2$. As micrografias de ambos os grupos apresentaram superfície granular descontínua, permeada por inúmeras microporosidades menores que $1,0\mu\text{m}$. Foi descrita também a presença de depósitos globulares, que variavam de $0,5\mu\text{m}$ a $2,0\mu\text{m}$. Segundos os autores, estas alterações morfológicas podem servir como reservatórios para minerais durante ataques de bactérias acidogênicas, promovendo assim certo grau de proteção ao esmalte dental³⁸.

Pesquisando os efeitos correlatos do laser de argônio e do flúor, Blankenau et al realizaram em 1999 um estudo *in vivo*, onde pré-molares com extração indicada para tratamento ordodôntico foram irradiados com densidade de energia de $12\text{J}/\text{cm}^2$. Os dentes irradiados e os do grupo controle foram bandados, para que ocorresse retenção de placa. Após um período de cinco semanas, os dentes foram extraídos e analisados em microscópio de luz polarizada. O grupo irradiado com laser de argônio apresentou redução na descalcificação da ordem de 29,1% quando comparados com o grupo controle, onde nenhum procedimento preventivo foi realizado³⁹.

Em 1999, Haider et al. analisaram diferentes compostos de flúor em associação com o laser de argônio. As amostras foram divididas em quatro grupos: controle (nenhum tratamento), somente laser de argônio, laser de argônio associado a aplicação de fluoreto de sódio neutro, laser de argônio associado a fluoreto de zinco. Após a exposição ácida destes grupos, houve redução significativa na desmineralização das superfícies irradiadas com laser de argônio e subsequente aplicação de fluoreto de zinco⁴⁰.

Recentemente, Anderson et al, utilizando baixas densidades de energia ($11,5\text{J}/\text{cm}^2$) na irradiação do esmalte dental com o laser de argônio, obtiveram

redução de 29% na formação de cáries artificiais, quando o tratamento com o laser era associado ao fluoreto de sódio. Na associação com flúor fosfato acidulado, esta redução foi ligeiramente menor, ficando em 25%⁴¹.

3.2.3 Lasers de excimer

O uso dos lasers de excimer em esmalte dental é restrito aos centros de pesquisa e universidades, devido ao alto custo deste equipamento. Outra desvantagem destes lasers é que eles operam em comprimentos de onda na faixa do ultravioleta, próximo ao espectro de absorção das proteínas constituintes do DNA e RNA (Figura 4.). Apesar disto, existem alguns trabalhos que descrevem a ação destes em esmalte dental.

Em 1992, Lipas et al. publicaram um trabalho onde foi avaliado a rugosidade superficial em esmalte dental humano, produzida pela ação de diferentes tipos de lasers (Ho:YAG, CO₂, CO₂+Nd:YAG e Ar:F). Os resultados foram comparados com a rugosidade produzida pelo ataque ácido. O laser que apresentou resultado mais próximo do padrão produzido pelo ácido foi o laser de ArF⁴².

Neste mesmo ano, Feuerstein et al. irradiaram superfícies de esmalte humano com laser de excimer ArF. As amostras foram examinadas em microscopia óptica e eletrônica de varredura. A irradiação resultou em uma superfície fusionada de aspecto vitrificado. Nenhum tipo de dano foi detectado ao redor da área irradiada, levando os autores a concluir que este laser pode ser usado de maneira controlada e definida em esmalte dental⁴³

Mor et al. irradiaram em 1995, ápices de raízes de pre-molares unirradiculares com o laser de excimer XeCl. O objetivo da pesquisa era realizar a fusão de uma pasta de hidroxiapatita e solução salina, que através do efeito térmico gerado pelo laser, selaria o ápice radicular. A densidade de energia

utilizada foi de $0,7\text{J}/\text{cm}^2$ durante um tempo de 5 segundos. De um grupo de doze pré-molares irradiados, quatro apresentaram infiltração marginal. Apesar deste resultado, a diferença entre o grupo irradiado com laser e o grupo controle (nenhum tipo de irradiação, somente aplicação da pasta de hidroxiapatita), não foi estatisticamente significativa⁴⁴.

Mudanças morfológicas no esmalte dental irradiado com laser de excimer ArF, foram descritas em 1996 por Frentzen et al.⁴⁵. As amostras foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura. Os autores descreveram o surgimento de uma superfície retentiva, acompanhada por alguma fusão e de porosidade aumentada, após a irradiação com o laser⁴⁶.

Em 1997, Wilder-Smith et al. irradiaram esmalte e dentina com um laser de excimer ArF. As amostras irradiadas apresentaram mudanças morfológicas superficiais, e quando a densidade de energia era aumentada, ocorreu ablação do tecido dental. Concluiu-se que o laser de excimer pode ser usado para preparos cavitários ou tratamentos que requeiram apenas mudanças morfológicas como fusão e ressolidificação⁴⁷.

Recentemente, Hashiguchi e Hashimoto, publicaram um trabalho onde foi usado o laser de excimer KrF em esmalte dental humano. Quando uma densidade de energia entre $800\text{J}/\text{cm}^2$ e $3200\text{J}/\text{cm}^2$ era utilizada, as superfícies analisadas em microscopia eletrônica de varredura apresentavam-se rugosas e com formações do tipo de bolhas⁴⁸.

3.2.4 Laser de érbio

Apesar de ainda não ter sido muito pesquisado na área da prevenção, o laser de érbio produz alterações no esmalte, que modificam o padrão de resistência ácida do mesmo.

Em 1990, Nara et al. utilizaram o laser de Er:YAG em esmalte e verificaram o comportamento deste em solução ácida. As amostras foram irradiadas com densidade de energia de $55\text{J}/\text{cm}^2$ e $130\text{J}/\text{cm}^2$. Quando comparadas com o grupo controle, estas amostras apresentaram redução na taxa de dissolução de cálcio quando imersas em solução de ácido perclórico $0,5\text{ M}$ ⁴⁹.

Os resultados encontrados em 1991 por Morioka et al. foram bastante satisfatórios. Os autores irradiaram a superfície de esmalte dental com o laser de Er:YAG, utilizando diferentes pigmentos foto-absorvedores (preto e branco). A utilização do pigmento preto produz maior resistência do esmalte ao ácido perclórico, e as alterações morfológicas no esmalte são maiores, se comparadas à utilização do pigmento branco. Outro resultado importante é que este padrão de ácido-resistência é maior do que o encontrado no laser de Nd:YAG⁵⁰.

O laser de érbio, cujo comprimento de onda de $2,94\mu\text{m}$, não pode ser conduzido por uma fibra óptica de quartzo. O sistema de entrega de feixe utilizado pelos fabricantes é em geral uma fibra cristalina de safira, fluoreto de zircônia ou então o braço articulado. Isto dificulta a aplicação deste laser em fissuras oclusais. Com o desenvolvimento de novas tecnologias no sistema entrega de feixe, novas estruturas com diâmetro reduzido, propiciaram melhor operacionalidade desse laser. Com isso, novas pesquisas surgiram, e os resultados mostraram que esse laser é capaz de produzir mudanças morfológicas através de efeitos térmicos, sem que haja ablação dos tecidos irradiados^{51,52}.

Recentemente Hsu (2000) irradiou superfícies de esmalte com o laser de érbio. O autor utilizou três ou quatro pulsos com energia de 60mJ e frequência de 2Hz . Os resultados mostraram que a irradiação pelo laser de érbio é capaz de provocar mudanças estruturais, que protegem o esmalte da desmineralização por solução ácida ($\text{pH}=4,5$)⁵³.

Um novo tipo de laser de érbio, com comprimento e onda de $2,79\mu\text{m}$, foi desenvolvido recentemente para ablação de esmalte e dentina^{54,55}. Este laser opera com um cristal de YSGG (yttrium-scandium-gallium-garnet) dopado com íons de érbio e cromo, denominado de laser de érbio-cromo ou Er,Cr:YSGG. Em

1997, Eversole et al. publicaram um estudo experimental, no qual foram irradiados dentes de ratos e de cães, e que visava determinar os efeitos daquele laser na polpa dental desses animais⁵⁶. Nenhum tipo de resposta inflamatória pulpar foi identificada imediatamente após a irradiação, nem após o período de 30 dias.

Apel et al. pesquisaram o potencial do laser de Er,Cr:YSGG na redução da solubilidade ácida do esmalte dental⁵⁷. Foram irradiados dois grupos de incisivos bovinos com densidades de energia de 2,7J/cm² e 6,5J/cm²; um terceiro grupo não foi irradiado (grupo controle). Após um período de 24 horas em solução ácida (pH 4,5), foi medida a concentração de cálcio depositado nas soluções. Os resultados mostraram uma significativa redução da concentração de cálcio no grupo irradiado com 6,5J/cm².

3.2.5 Laser de Hólmio

Estudos *in vitro* foram realizados para medir o aumento da temperatura na câmara pulpar, quando o laser de Ho:YLF era utilizado em esmalte e dentina. A energia utilizada foi de 500mJ por pulso, durante 30 pulsos. Não houve aumento de temperatura no interior da câmara pulpar acima de quatro graus centígrados. Os autores concluíram que o laser de Ho:YLF pode ser testado clinicamente, sem risco de danos ao tecido pulpar⁵⁸ (Zezell et al., 1996).

Kinney et al. sugeriram, em 1996 que o laser de Ho:YAG, cujo comprimento de onda é de 2100nm apropriado para ablação de tecido dental, gerando efeitos térmicos mínimos⁵⁹.

Em 1995, Cernavin⁶⁰ concluiu, após comparar o laser de Ho:YAG com o de Nd:YAG, que o laser de hólmio seria mais apropriado para se trabalhar em esmalte e dentina do que o laser de neodímio, devido o fato de o comprimento de onda do laser de hólmio ser melhor absorvido pela água e pela hidroxiapatita.

Em um estudo para avaliar o potencial do laser Ho:YLF na prevenção de cáries, Zezell et al. (1998) relatam que, após aplicação de flúor no esmalte dental e posterior aplicação do laser, houve aumento da microdureza e da concentração de íons flúor neste tecido, assim como menor perda de cálcio, quando as amostras eram expostas ao ácido. Os autores concluíram que o laser de hólmio pode ser útil na prevenção de cáries⁶¹.

3.2.6 Laser de Diodo

Oliveira et al. (2000) irradiaram esmalte dental com laser de diodo (960nm). Os autores utilizaram um pigmento iniciador para aumentar a absorção do esmalte pelo laser. Os resultados da análise morfológica em microscopia eletrônica de varredura mostraram em todas as amostras, uma superfície ressolidificada e homogênea⁶²

3.2.7 Laser de CO₂

Nelson et al. descreveram, em 1987, alterações morfológicas ocorridas após a irradiação de esmalte dental humano por um laser de CO₂, com densidade de energia de 50J/cm², em quatro diferentes comprimentos de onda (9,32µm, 9,57µm, 10,27µm, 10,59µm)⁶³. Em todas as amostras, houve fusão e ressolidificação do esmalte. Os autores descrevem a presença de irregularidades recobertas por uma camada vitrificada, onde bolhas parecem ter explodido durante o processo de fusão. Várias trincas no esmalte irradiado também foram descritas.

Walsh e Perham utilizaram em 1991 um laser de CO₂ com comprimento de onda de 10.6µm, operando em modo contínuo e densidade de potência variando entre 13KW/cm² e 760KW/cm², com tempo de exposição de 100ms, para

selamento de sulcos e fissuras em dentes de humanos⁶⁴. Em baixas potências (2W-5W), foram encontrados pontos localizados de esmalte fundidos, seguidos por recristalização, assim como pequena perda mineral. A aparência desse esmalte era opaca e vitrificada. Em altas potências (30W-60W), houve significativa destruição do esmalte com a ocorrência de uma zona central de vaporização e uma zona marginal de fusão. A utilização de potências entre 2W e 5W mostrou ser capaz de obliterar parcialmente as fissuras e cicatrículas dos dentes irradiados. Alguns destes possuíam, nas paredes laterais de seus sulcos, lesões de cárie. Nesse caso, as lesões foram vaporizadas e o esmalte não cariado foi fundido e recristalizado. Dentro deste intervalo de potência, a menor densidade de potência capaz de provocar fusão de esmalte foi de $25\text{KW}/\text{cm}^2$, utilizando-se potência de 2W e exposição de 0,1 segundos.

Seguindo uma linha de estudo, que pesquisava o efeito de diferentes tipos de laser e do flúor em lesões de cárie, Featherstone et. al realizaram em 1991 um estudo para conhecer os efeitos gerados pelo laser de CO_2 nesta técnica⁶⁵. Os autores utilizaram o comprimento de onda de $9.3\mu\text{m}$ em lesões iniciais de cárie, e após a irradiação, fizeram a aplicação de flúor nas amostras. Os resultados encontrados foram muito interessantes, pelo fato de ter havido completa inibição da progressão das lesões.

Resultados da ação conjunta do laser com o flúor foram descritos por Kantorowitz et al. em 1996⁶⁶. Os autores utilizaram o laser de CO_2 pulsado com comprimento de onda de $9.6\mu\text{m}$, 100mJ e 10Hz. Os resultados estabeleceram uma relação entre os potenciais de inibição de cárie e das diferentes técnicas utilizadas (aplicação de flúor fosfato acidulado (FFA), irradiação com laser de CO_2 , e aplicação de FFA após irradiação com laser). A aplicação de FFA promoveu inibição no desenvolvimento de 38% das lesões, a irradiação com laser 59% e a associação das duas técnicas uma redução de 88 %.

Em 1997, Featherstone et al. utilizaram um laser de CO_2 pulsado, com comprimentos de onda de $9.3\mu\text{m}$; $9.6\mu\text{m}$; $10.3\mu\text{m}$; $10.6\mu\text{m}$; com duração do pulso de $100\mu\text{s}$, 25 pulsos/ponto e fluência de $0 - 6 \text{ J}/\text{cm}^2$, para avaliar a redução da solubilidade do esmalte dental induzida pelo laser²⁵. Os autores sugerem que a

redução da solubilidade do esmalte, após a incidência do laser, é provocada por alterações químicas dos cristais de hidroxiapatita (HA), onde o componente carbonato $(\text{CO}_3)^{2-}$ seria decomposto. Este mecanismo diminui a reatividade do esmalte, tornando-o mais ácido-resistente. A perda total do componente carbonato ocorre nos comprimentos de onda de $9.3\mu\text{m}$ e $9.6\mu\text{m}$ com fluência de $4\text{J}/\text{cm}^2$. O pico de temperatura na superfície de esmalte nestas condições é de 800°C , indicando ser esta a temperatura necessária para que ocorra perda total de carbonato. Estes comprimentos de onda requerem bem menos energia do que os comprimentos de $10.3\mu\text{m}$ e $10.6\mu\text{m}$, para que o mesmo efeito ocorra. Concluiu-se após este trabalho, que o grau de inibição da desmineralização depende de alguns fatores, entre eles o comprimento de onda, o número de pulsos, a duração dos pulsos e da fluência utilizada. Os comprimentos de onda que promovem melhor este fenômeno são $9.3\mu\text{m}$ e $9.6\mu\text{m}$. A fluência considerada ótima neste caso é de $4\text{J}/\text{cm}^2$.

Takahashi et al. utilizaram em 1998 um Laser de CO_2 pulsado, com comprimento de onda de $9,3\mu\text{m}$, com duração de pulso de $350\mu\text{s}$, taxa de repetição de 5Hz ou 20Hz, tempo de exposição de 2 segundos, fluência de $78\text{J}/\text{cm}^2$, Spot size de 0.32 mm e potência pico de 180W, para análise de mudanças morfológicas e químicas em esmalte e dentina humanos⁶⁷. Foram encontrados micro-rachaduras e alguns pequenos buracos tanto em esmalte quanto na dentina. A superfície do esmalte tinha aparência desigual, acidentada e fundida. Foram vistas crateras similares a um funil com sua superfície fundida e recristalizada. A análise química do esmalte irradiado mostrou aumento significativo na quantidade de Cálcio e Fósforo. No que se refere à taxa de repetição, não houve diferenças significativas no esmalte íntegro quanto ao número de pulsos por segundo.

Kantorowitz et al. utilizaram em 1998 um laser de CO_2 pulsado, com comprimentos de onda (C.W.) de $9.6\mu\text{m}$ e $10.6\mu\text{m}$, com duração do pulso de $100\mu\text{s}$, taxa de repetição de 10Hz, diâmetro do feixe de 1,6 mm, para relacionar o número de pulsos com o potencial de inibição de cárie em esmalte humano⁶⁸. Para o comprimento de onda de $9.6\mu\text{m}$ foi utilizada a energia de 100mJ por pulso e fluência de $5\text{J}/\text{cm}^2$, em 1, 5, 25 ou 100 pulsos. Em $10.6\mu\text{m}$ foi utilizada a energia

de 240mJ por pulso e fluência de $12\text{J}/\text{cm}^2$ no mesmo número de pulsos citados acima. O laser pulsado foi escolhido pelo fato de produzir picos com altas densidades de energia enquanto minimiza o acúmulo de energia. Apesar de depositar menor acúmulo de energia do que um laser de modo contínuo, quanto maior for o número de pulsos, maior será a energia acumulada. O aumento da temperatura pulpar é consequência direta deste fenômeno citado anteriormente. O número de pulsos ideal para inibição de cárie foi de 25 pulsos nos dois comprimentos de onda testados. Nestas circunstâncias, o potencial de inibição do laser de $10.6\mu\text{m}$ foi maior que o de $9.6\mu\text{m}$. Apesar disto, do ponto de vista de proteção pulpar, o laser de $10.6\mu\text{m}$ produz um aumento de temperatura da ordem de 10°C na câmara pulpar a uma distância de 2mm da superfície irradiada, sendo assim prejudicial à vitalidade da polpa dental. Já o laser de $9.6\mu\text{m}$ provoca um aumento de apenas 1°C na câmara pulpar, considerando-se a mesma distância da superfície irradiada.

Featherstone et al. Utilizaram em 1998 um laser de CO_2 pulsado com comprimentos de onda de $9.3\mu\text{m}$; $9.6\mu\text{m}$; $10.3\mu\text{m}$; $10.6\mu\text{m}$, energia por pulso de 25mJ; 50mJ; 100mJ; 200mJ; 250mJ, taxa de repetição de 10Hz, à 25 pulsos, duração do pulso $\sim 100\mu\text{s}$, com diâmetro do feixe de 1.6 mm e fluência de $1\text{J}/\text{cm}^2$ a $12.5\text{J}/\text{cm}^2$, para inibição de lesões de cárie artificialmente criadas em esmalte humano²⁷. Os autores mostram que fluências/pulso relativamente baixas, na ordem de $2.5\text{J}/\text{cm}^2$ a $5\text{J}/\text{cm}^2$, são efetivas na inibição de cáries quando os comprimentos de onda de $9.3\mu\text{m}$ e $9.6\mu\text{m}$ são utilizados. Essas fluências à 10Hz e 25 pulsos, produzem aumentos de temperatura à uma profundidade de 2mm do esmalte de apenas 1°C ou menos. As durações dos pulsos no intervalo de $100\mu\text{s}$ a $302\mu\text{s}$ são consideradas ideais quando os comprimentos de onda de $9.3\mu\text{m}$ e $9.6\mu\text{m}$ são utilizados.

Hsu et al. concluíram em 1998 que a aplicação do Laser de CO_2 no esmalte dental resulta em significativa redução na solubilidade deste, e que há um sinergismo significativo entre a radiação laser e a aplicação de flúor para o aumento da resistência ao ácido pelo esmalte⁶⁹.

Konishi et al. utilizaram em 1999 um laser de CO₂, com comprimento de onda de 9.3µm, em esmalte cariado artificialmente⁷⁰. Após a remoção de tecido cariado, pelo laser ou por brocas carbide (grupo controle), as amostras foram restauradas com resina composta, sem o uso de ataque ácido ou de adesivo dentinário. As amostras foram submetidas à solução ácida (pH 4.5) por 6 horas, seguidas por solução remineralizadora (pH 7,0) por 18 horas. Os resultados mostraram que o tratamento com o laser não somente removeu as cáries artificiais, mas inibiu a descalcificação nas paredes do preparo em aproximadamente 81%, quando comparado ao grupo controle.

3.2.8 Laser de Neodímio

Na primeira metade da década de 70, já era conhecido o potencial inibitório do laser frente à cárie dental. A maioria dos pesquisadores utilizava o laser de CO₂ com comprimento de 10.6µm em seus trabalhos.

Em 1974, Yamamoto & Ooya, utilizando um laser de neodímio – Nd:YAG – com comprimento de onda de 1064 nm, densidade de energia de 10J/cm² e 20J/cm², operando em modo pulsado, irradiaram esmalte dental¹. As amostras irradiadas, juntamente com as amostras do grupo controle foram colocadas em uma cultura de *Streptococcus mutans* por um período de 3 a 7 dias. Sob a análise de microscopia eletrônica de varredura, todas as amostras do grupo controle apresentaram mudanças estruturais decorrentes da ação do ácido láctico produzido pelo meio de cultura. O grupo irradiado com 10J/cm² apresentou pequena desmineralização superficial, e o grupo irradiado com 20J/cm² não apresentou desmineralização aparente. Em ambos os grupos irradiados, a superfície de esmalte apresentou algumas trincas. A dissolução de cálcio também foi analisada, e a menor taxa encontrada foi no grupo irradiado com 20J/cm². Os autores concluíram que a aplicação do laser de Nd:YAG pulsado produz alterações na superfície de esmalte que levam ao aumento da resistência à cárie dental.

É interessante citar que os autores no artigo anterior usam o termo laser de YAG, citando o laser de neodímio. Cabe salientar que, YAG é apenas a sigla de Yttrium-Aluminum-Garnet, ou em português, granada de alumínio-ítrio, ou óxido de ítrio alumínio ($Y_3Al_5O_{12}$), que é o cristal que hospeda os íons de neodímio (Nd^{3+}). Esse cristal sem os íons dopantes não emite luz laser, além disto, por possuir condutibilidade térmica relativamente alta, possibilita ao equipamento operar com elevadas taxas de repetição, sem que haja danos.

Em 1980, Yamamoto e Sato irradiaram esmalte dental com um laser de neodímio Q-switched²². As condições de irradiação foram: 2 potência pico de 100KW, largura de pulso de 100ns e taxa de repetição de 1KHz. Os dentes foram cobertos com um material absorvedor, que não é especificado no trabalho. Os autores relataram a ausência de cavitação em solução ácida de pH 4,5 após um período de 4 dias. As micrografias das superfícies irradiadas não mostram desmineralização superficial como o ocorrido no grupo controle. Dos 60 dentes analisados, 44 (73%) apresentaram uma notável resistência ao ácido, e em 16 (23%) destes moderada resistência foi verificada.

Neste mesmo ano, Yamamoto e Sato publicaram outro trabalho onde foram utilizados três diferentes tipos de laser de neodímio²³. Um laser operando em modo de oscilação livre, e outros dois chaveados. Eles concluíram que a irradiação com o laser pulsado (normal) em superfícies lisas após a aplicação de $Ag(NH_3)_2F$, aumenta a incorporação de flúor e diminui a desmineralização. Das superfícies irradiadas.

Baseados nos experimentos descritos acima e no trabalho de Goodman e Kaufman³⁴, Morioka e Tagomori realizaram em 1981⁷¹, um trabalho, hoje considerado clássico, que seria o primeiro de uma série, útil na avaliação da ação conjunta do laser de Nd:YAG e do flúor. Eles concluíram que a irradiação do esmalte dental com o laser de Nd:YAG pulsado, com densidade de energia acima de $30J/cm^2$, reduz a dissolução deste. Concluíram também, que a aplicação de flúor fosfato acidulado após a irradiação com o laser aumenta significativamente a resistência ácida do esmalte assim como o ganho de flúor.

Em 1987 Morioka et al compararam os efeitos do laser de Nd:YAG operando em modo livre e no modo Q-switched em superfícies de esmalte dental⁷². As micrografias das superfícies irradiadas com o laser Q-switched, mostraram crateras profundas, e no grupo irradiado com o laser em modo livre, foi observada a presença de um fino mosaico. Avaliando a resistência ácida ao esmalte, o grupo irradiado com o laser de neodímio, oscilando no modo livre, apresentou maior resistência a desmineralização assim como maior penetração e flúor, quando flúor fosfato acidulado era aplicado após a irradiação das amostras.

Seguindo a linha de pesquisa laser + flúor, Morioka & Tagomory publicaram em 1988 um trabalho, onde eles analisaram a distribuição de cálcio, fosfato e flúor através de mapeamento colorido por microscopia de força atômica (EPM), em superfícies de esmalte dental irradiadas com laser de Nd:YAG⁷³. Os parâmetros de irradiação utilizados foram: densidade de energia entre 0 e 150J/cm², taxa de repetição de 20Hz, tempo de irradiação de 0,5 segundos. Os autores concluíram que a distribuição de flúor no esmalte tratado com laser seguido da aplicação de flúor fosfato acidulado é acentuadamente maior, principalmente na camada superficial, e ao redor das fendas produzidas pela irradiação. O padrão de distribuição de cálcio é semelhante ao do flúor, e o de fosfato apresenta um decréscimo nessas mesmas regiões.

Oho e Morioka relataram em 1988, através de estudos com microscopia de luz polarizada e espectroscopia infravermelha, que as superfícies dentais irradiadas com laser de Nd:YAG e com laser de argônio apresentam menores quantidades de água, substâncias orgânicas e carbonato⁷⁴.

Em 1990, os mesmos autores descreveram um possível mecanismo em que o esmalte, irradiado pelo laser, adquire maior resistência ao ácido⁷⁵. O estudo teve como base às alterações nas propriedades ópticas e estruturais do esmalte irradiado com laser de argônio, comparadas ao do esmalte não irradiado. A densidade de energia utilizada foi de 67J/cm². Os autores concluíram que o esmalte irradiado apresenta maior permeabilidade e que este aumento pode ser atribuído aos micro-espacos formados pela remoção de componentes, como água e carbonato durante o processo de irradiação.

Tagomori e Morioka realizaram em 1989 um trabalho que procurava pesquisar detalhadamente os efeitos gerados pela utilização conjunta do laser de neodímio e do flúor em relação à resistência do esmalte ao ácido⁷⁶. Os autores usaram fluoreto de sódio (NaF) e flúor-fosfato-acidulado (FFA) antes e depois da irradiação de superfícies de esmalte com laser. Os melhores resultados encontrados foram o da aplicação de FFA depois da irradiação com laser, com densidade de energia variando de 30J/cm² a 100J/cm². Os resultados encontrados com NaF, não foram tão significantes. O estudo pressupõe que o laser de neodímio, ao provocar a fusão do esmalte dental, aumenta a permeabilidade deste, permitindo maior incorporação de flúor nas estruturas superficiais que foram ressolidificadas. Outra conclusão é que a solubilidade do esmalte diminui após a irradiação pelo laser de neodímio.

Continuando as pesquisas neste campo, foi publicado ainda em 1989, outro trabalho de Tagomory e Morioka, onde o interesse da pesquisa era saber se o laser de Nd:YAG, associado ao FFA, teria efeitos benéficos em cáries incipientes⁷⁷. Após produzir cárie artificialmente em pré-molares recém extraídos, essas amostras foram irradiadas com o laser de Nd:YAG, operando no modo pulsado, com taxa de repetição de 20Hz, densidade de energia de 30J/cm², e tempo de 0,5 segundos. Foi utilizado um iniciador para aumentar a absorção do laser pelo esmalte. A dissolução de cálcio foi medida após submeter as amostras em ácido perclórico a 0,5 M por 15, 30, e 45 segundos. Concluiu-se que o esmalte com lesões de cárie incipientes, após a irradiação era mais ácido resistente do que o esmalte não irradiado. Em outra parte do trabalho algumas amostras foram submetidas a uma solução FFA. Os resultados obtidos mostraram que houve maior penetração de flúor nas amostras irradiadas do que nas do grupo controle. Um outro dado importante é que quando estas amostras foram submetidas a uma solução de cálcio, houve aumento na remineralização do grupo irradiado.

Em 1991, Morioka et al.⁷⁸ realizaram um experimento semelhante, porém com densidade de energia de 40J/cm². Os autores reafirmaram a ocorrência de remineralização, e concluíram, através da microscopia eletrônica de varredura,

que este fenômeno não ocorria apenas na superfície do esmalte, mas também nas áreas mais profundas das lesões de cárie artificial.

Morioka e seus colaboradores chegaram à conclusão de que o laser de Nd:YAG, associado ao flúor fosfato acidulado, promove aumento da resistência do esmalte à desmineralização por ácido, aumento de remineralização, e aumento na incorporação de flúor pelo esmalte^{75,79}.

Hess, em 1990⁸⁰, descreveu algumas alterações morfológicas ocorridas após irradiação de esmalte dental recoberto por um iniciador, pelo laser de Nd:YAG. O autor utilizou dois parâmetros de densidade de energia, 95.5J/cm² (grupo 1) e 238.8J/cm² (grupo 2). A superfície do grupo 1 apresentou inúmeras formações semelhantes a pequenas bolhas, além de pequenas elevações irregulares. Trincas bem finas foram descritas em todas as amostras. No grupo 2, houve formação de crateras. Estas eram preenchidas por depressões e elevações onde as formações do tipo bolha podiam ser vistas juntamente com a presença de vários poros. Trincas também foram observadas nesse grupo.

Myer utilizou em 1990⁸¹, um laser de Nd:YAG com 80mJ e 10Hz em esmalte recoberto com iniciador e concluiu que este laser produz profundidade de condicionamento do esmalte semelhante ao ácido fosfórico. As amostras deste trabalho não apresentaram nenhum tipo de trinca, como descrito no trabalho de Hess. O autor descreveu a formações de múltiplas estruturas de padrão circular, que se sobrepunham umas as outras na superfície irradiada pelo laser.

Os trabalhos de Hess e de Myers procuravam criar bases para a utilização do laser de Nd:YAG no condicionamento de esmalte. Os autores acreditavam que o aumento da área de superfície e a formações irregulares no esmalte irradiado, poderiam aumentar a força de adesão de materiais restauradores, e poderia até substituir o método convencional de condicionamento do esmalte pelo ácido.

Pesquisas posteriores como a de Eduardo et al. em 1997, mostraram resultados insatisfatórios para a utilização do laser de Nd:YAG em condicionamento de esmalte⁸². Os autores realizaram um estudo comparativo

para avaliar a força de cisalhamento de uma resina composta aderida á superfície do esmalte dental, após condicionamento com ácido fosfórico a 35%, ou com irradiação com laser de neodímio, com densidade de $165,8\text{J}/\text{cm}^2$ por pulso. Concluiu-se que a adesão foi significamente maior no grupo tratado com ácido fosfórico 35% do que no grupo irradiado com o laser.

White et al. em 1992 procuraram determinar parâmetros para a utilização do laser de Nd:YAG em esmalte e em dentina, recobertos ou não por um pigmento foto-iniciador⁸³. Utilizando um laser de Nd:YAG pulsado, com largura temporal de $150\mu\text{s}$, densidade de energia entre $35,7\text{J}/\text{cm}^2$ e $187,5\text{J}/\text{cm}^2$, e tempo de exposição de 1,10 e 30 segundos, os autores mediram o aumento de temperatura na superfície dental quando as amostras eram irradiadas. Compararam com o aumento de temperatura provocado por uma broca carbide refrigerada a ar. Embora altas temperaturas fossem geradas pela irradiação em todos os parâmetros, a penetração térmica em direção a polpa era significamente menor, do que as produzidas pela broca. Os autores concluíram que o laser de Nd:YAG pode ser usado tanto em esmalte quanto em dentina, sem causar efeitos prejudiciais à polpa dental.

Com a evolução dos estudos *in vitro*, Morioka⁸⁴ realizou em 1993 um trabalho *in vivo*, onde os objetivos eram verificar o grau de sensibilidade apresentado pelos pacientes após 8a aplicação do laser de Nd:YAG com o intuito de prevenir cáries, e a avaliação destas superfícies após 24 meses. Foi utilizada a técnica de aplicação do flúor fosfato acidulado após a irradiação do esmalte recoberto por iniciador pelo laser de neodímio. Do total de 11 pacientes, 9 relataram a sensação de calor durante a aplicação; 1 relatou um leve desconforto passageiro e 1 relatou a sensação de impacto durante a aplicação. Após o período de avaliação clínica, não foi observada nenhuma alteração nas lesões de cárie incipientes que foram irradiadas.

Bahar & Tagomori⁸⁵ estudaram em 1994 o efeito do laser de neodímio em sulcos e fissuras. O laser utilizado nesse estudo possuía comprimento de onda $1,064\mu\text{m}$, largura de pulso de $0,3\mu\text{s}$, energia de pulso de $0,75\text{J}$ e taxa de

repetição de 20Hz. Foi utilizada uma fibra de 200 μ m, e o tempo de irradiação correspondia a 0,5 segundos. Seguindo o proposto por Tagomory & Morioka em 1989⁷⁶, os sulcos foram pincelados com tinta nanquim. O intuito desse estudo era avaliar os efeitos do laser de neodímio no esmalte de fissuras e sulcos; a limpeza desses sulcos pelo laser; a incorporação de flúor pelo esmalte, quando este era tratado com flúor fosfato acidulado (FFA) após a irradiação com o laser. Os autores concluíram que o laser de neodímio pulsado é efetivo no aumento da resistência do esmalte ao ácido, assim como na limpeza de debris nos sulcos e fissuras. Outro resultado positivo encontrado é o aumento da incorporação de flúor nas partes mais fundas dos sulcos.

O laser de neodímio passou a ser uma alternativa de prevenção não somente das cáries presentes na coroa dental, mas também em superfícies radiculares. Sem abrir mão dos achados clínicos e científicos, este procedimento foi utilizado em conjunto com a aplicação de flúor após a irradiação^{86,87}.

Procurando avaliar a resistência ao ácido do esmalte irradiado com laser de Nd:YAG, Cecchini et al. em 1998, submeteram amostras irradiadas com densidades de energia de 83,75J/cm², 166,25J/cm² e 187,50J/cm² em uma cultura de *S. mutans* por 15 e 21 dias⁸⁸. Em todos os grupos, foram verificadas, através de microscopia eletrônica de varredura, fusão e ressolidificação da superfície de esmalte irradiada. Quando a aplicação de FFA foi feita após a irradiação, verificou-se através de fluorescência de raios X, aumento significativo da resistência ao ácido produzido pela cultura de *S. mutans*. As cavitações, que ocorreram no grupo controle, não foram verificadas em nenhum dos grupos irradiados com o laser.

Miaki et al.⁸⁹ utilizaram em 1998, um laser de Nd:YAG pulsado com comprimento de onda de 1064nm, com densidade de energia de 124,3J/cm², 2.0W de potência, taxa de repetição de 20Hz durante 3 minutos em fissuras oclusais. Os autores relatam que, em algumas fissuras, houve selamento pela fusão e recristalização do esmalte. A superfície do esmalte aparentava numerosas rugosidades e diferentes tipos de trabéculas. As áreas adjacentes à irradiação laser mostravam diferentes tamanhos de crateras. Áreas vitrificadas e

presença de granulações também foram identificadas. Nas fissuras mais profundas, não houve selamento, ou este fenômeno ocorreu somente na superfície, deixando no fundo da fissura um espaço não preenchido pelo esmalte ressolidificado. Como foi utilizado nanquim como foto-absorvedor neste trabalho, acredita-se que a tinta não tenha alcançado o fundo das fissuras mais profundas, não ocorrendo assim a fusão do esmalte nesta região. Os autores questionam ainda se o benefício do aumento da resistência do esmalte ao ataque ácido compensaria o possível aumento de acúmulo de placa dental, uma vez que a superfície do esmalte tornaria-se mais áspera.

Em 1999, Pelino et al.⁹⁰ realizaram um estudo *in vitro* dos efeitos do laser de Nd:YAG em esmalte dental humano. As amostras foram analisadas em microscopia óptica e eletrônica de varredura. Utilizando densidades de energia que variaram de $83,75\text{J/cm}^2$ a $187,50\text{ J/cm}^2$, as amostras foram expostas em cultura de *Streptococcus mutans* por 15 e 21 dias. Os autores descrevem que após a irradiação com o laser, a superfície de esmalte apresentava numerosas formações de superfícies irregulares e áreas vitrificadas e lisas com formas circulares, presença de bolhas e formação de pequenas crateras. Não houve desmineralização das superfícies irradiadas após a exposição à cultura acidogênica, demonstrando o aumento da resistência ao ácido nestas superfícies.

4. OBJETIVOS

Com base nos dados encontrados na literatura, este trabalho tem como objetivo verificar, *in vitro*, se a hidroxiapatita sintética micromizada e o esmalte dental micromizado serão capazes de fundir-se em superfícies lisas de esmalte dental ou em fissuras oclusais, através do efeito térmico ocasionado pelo laser de neodímio, através de análise morfologia por microscopia eletrônica de varredura.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

Foram utilizados neste trabalho, os seguintes materiais e equipamentos :

- 1- Equipamentos pertencentes ao L.E.L.O.
 - Laser de Nd:YAG – Modelo Pulse Mater 1000 – American Dental Technology ® – Ca – U.S.A. ;
 - Óculos de proteção de densidade óptica 5, específico para o comprimento de onda do laser e Nd: YAG – 1064 nm.
 - Estabilizador de eletrônico CM ® (Comandos Lineares Ltda.), 2.0 Kva Modelo CMB – 2000 série 19276/110V, utilizado com o laser de Nd:YAG;
 - Caneta de alta rotação e seringa tríplice Dabi Atlante ®;

- 2- Equipamentos pertencentes ao .CCTM do IPEN/CNEN–SP:
 - Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo LX 30, Philips ® - Eindhoven, Holanda.
 - Cuba Ultrassônica, Odontobrás

- 3- Materiais utilizados:
 - Pincel;
 - Álcool Absoluto;
 - Água destilada;
 - Fresa diamantada nº 1091;
 - Soro Fisiológico Nacl 1%;
 - Carvão vegetal em pó;
 - Hidroxiapatita sintética granulada- Pró-Line Ltda;

- Esmalte dental humano;
- Gral de porcelana e pistilo de vidro;
- 15 dentes terceiros molares humanos, provenientes do banco de dentes da Faculdade de Odontologia da USP.

5.1.1 Características do laser

O equipamento utilizado é um laser de neodímio (Nd:YAG), que emite comprimento de onda de 1064nm, com taxa de repetição variável 10 a 100 Hz, largura de pulso de 100µs, energia até 320mJ e potência de até 10W.

Por operar na região do infravermelho, o feixe do laser de neodímio, não é visível, sendo necessário a utilização de um feixe laser guia.

O laser de neodímio pode ser transmitido por uma fibra óptica de quartzo. No experimento, foi utilizada uma fibra de 300 µm, original do aparelho Pulse Master 1000.

5.1.2 Preparo das substâncias irradiadas

A hidroxiapatita sintética, o esmalte dental e o carvão vegetal foram micromizados separadamente em um gral de porcelana com pistilo de vidro. Amostras de cada uma dessas substâncias foram submetidas separadamente à análise dimensional. Os resultados são descritos nas figuras 6, 7 e 8.

Foram feitas três substâncias para serem irradiadas no experimento. A primeira contendo hidroxiapatita e carvão na proporção de 3:1 peso/peso. A segunda contendo esmalte e carvão também na proporção de 3:1 peso/peso. Uma terceira substância contendo apenas carvão foi utilizada como controle.

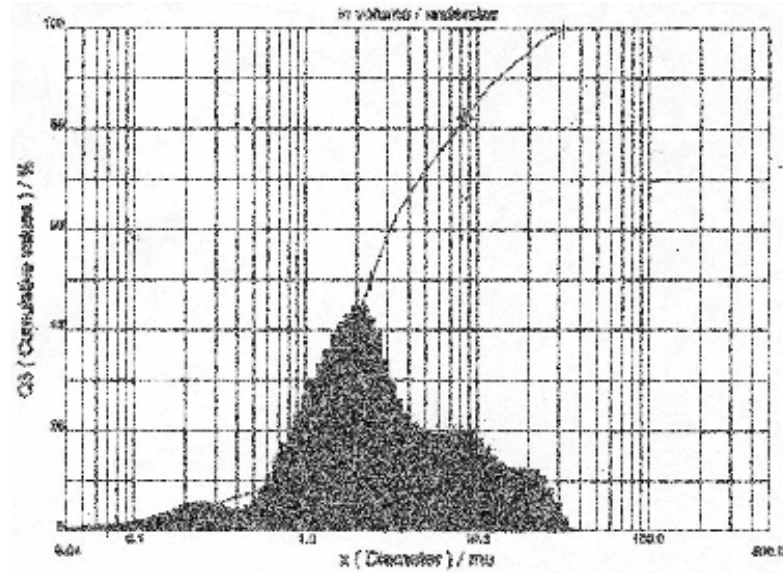


Figura 6. Análise dimensional da hidroxiapatita micromizada.

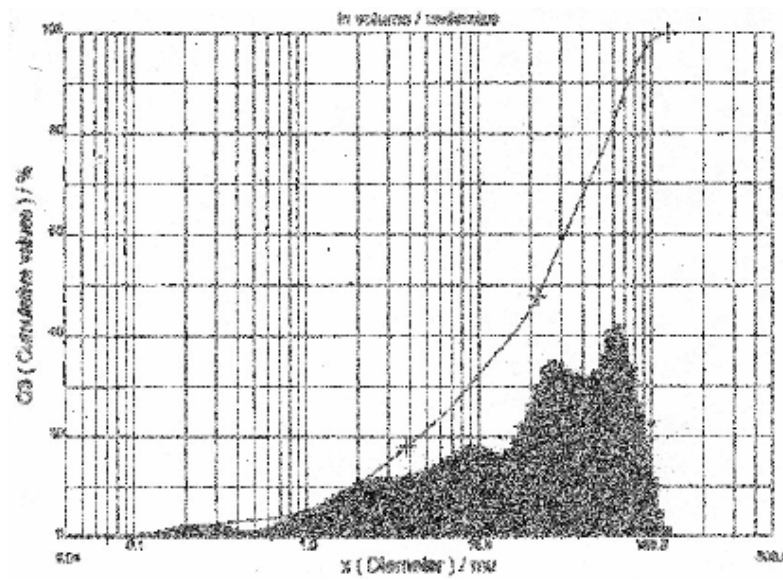


Figura 7. Análise dimensional do esmalte micromizado.

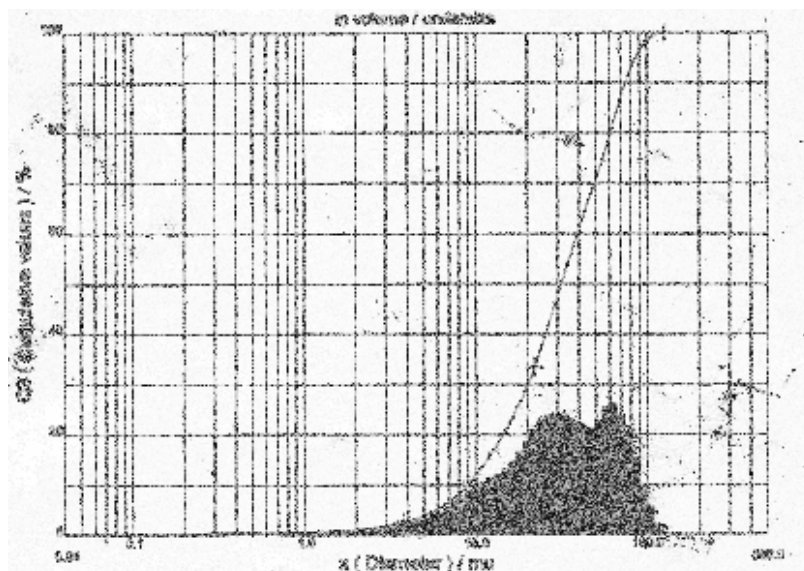


Figura 8. Análise dimensional do carvão micromizado.

5.2 Métodos

5.2.1 Distribuição das amostras

O experimento foi realizado em duas partes. Na primeira foram irradiadas superfícies lisas de esmalte humano, recobertas com as substâncias descritas anteriormente. Estas amostras foram submetidas à análise de microscopia eletrônica de varredura, juntamente, com outras amostras descritas na tabela 1, como grupo I e grupo II. Foram realizadas micrografias em três aumentos diferentes. As micrografias dos grupos III, IV e V, em menor aumento, foram analisadas quanto ao aspecto do relevo apresentado após irradiação. Os resultados foram comparados estatisticamente.

Na segunda parte do experimento, foi realizada a irradiação das amostras de superfície oclusal recoberta com as substâncias descritas anteriormente. Esta parte do experimento não foi submetida a nenhuma análise de relevo, sendo apenas descritiva.

As amostras foram distribuídas em 8 grupos, conforme a tabela a seguir.

Tabela 1. Distribuição da amostras analisadas.

Grupo	Quantidade	Tipo de Superfície	Composto	Densidade de Energia
I	1	Lisa	Nenhum	0 J/cm ²
II	1	Lisa	Nenhum	113,1J/cm ²
III	5	Lisa	Hidroxiapatita +Carvão	113,1J/cm ²
IV	5	Lisa	Esmalte +Carvão	113,1J/cm ²
V	5	Lisa	Carvão	113,1J/cm ²
VI	2	Sulcos e Fissuras	Hidroxiapatita +Carvão	113,1J/cm ²
VII	2	Sulcos e Fissuras	Esmalte +Carvão	113,1J/cm ²
VIII	2	Sulcos e Fissuras	Carvão	113,1J/cm ²

Obs: As amostras do grupo 1 e 2 apresentam apenas 1 exemplar apenas para efeito de comparação.

5.2.2 Irradiação da amostras

Os dentes utilizados foram provenientes do banco de dentes da Faculdade Odontologia da USP. As coroas foram separadas das raízes com uma fresa diamantada de alta rotação nº 1091, sendo então imersas em uma cuba ultrassônica durante 15 minutos, para eliminação de resíduos da superfície de esmalte.

As substâncias foram aplicadas nos sulcos e fissuras oclusais e nas superfícies lisas de esmalte com ajuda de um pincel, no método pó e líquido (constituído unicamente por álcool absoluto). Após a irradiação, as substâncias eram novamente aplicadas, e este processo se repetia por três vezes.

Imediatamente após a aplicação dos compostos o dente era irradiado com os seguintes parâmetros:

- Energia de 80mJ, frequência de 15Hz e potência de 1.2W resultando em densidade de energia de $113,1\text{J}/\text{cm}^2$ (Figura 9).

A irradiação foi feita com fibra óptica incidindo perpendicularmente e em contato com o esmalte, abrangendo toda a superfície de sulcos.

Para cada irradiação, a terminação da fibra foi clivada, devido à carbonização que ocorre em sua ponta. Esse procedimento permite um melhor aproveitamento do feixe emitido, conseqüentemente, maior eficácia da irradiação.

Durante todo o tempo em que o painel do aparelho indicava que este estava pronto para irradiação, foram utilizados os óculos de proteção de densidade óptica cinco, compatível com o comprimento de onda de 1064nm.



Figura 9. Parâmetros utilizados na irradiação das amostras

5.2.3 Microscopia eletrônica de varredura

Após a irradiação, as amostras foram desidratadas seqüencialmente em soluções alcoólicas nas concentrações de 50%, 70%, 90% e 100%, durante 15 minutos em cada solução. Para manter as amostras desidratadas, estas foram mantidas em um recipiente fechado contendo sílica.

Para realização da microscopia eletrônica de varredura, é necessário que a superfície analisada seja boa condutora de elétrons. Como o dente não preenche esta exigência, é necessário o recobrimento da superfície com um metal condutor. Portanto, um banho de ouro foi dado por dois minutos nestas amostras.

Foram observados os aspectos estruturais e as alterações morfológicas do esmalte dental recoberto com os diferentes compostos, após irradiação com o laser de neodímio.

6. RESULTADOS

6.1 Micrografias eletrônicas de superfície lisa

As figuras de 10 a 12 mostram aspectos microscópicos da superfície de esmalte não irradiado (Grupo I). As micrografias eletrônicas mostram o aspecto natural de uma superfície lisa de esmalte. A superfície apresenta-se lisa, e com alguns riscos.

As figuras de 13 a 15 mostram aspectos microscópicos da superfície de esmalte irradiada pelo laser de Nd:YAG pulsado, com densidade de energia de $113,1\text{J}/\text{cm}^2$, sem adição de nenhuma substância foto-iniciadora (Grupo II). Verifica-se em todas as micrografias eletrônicas, que a densidade de energia aplicada, é capaz de modificar a superfície de esmalte, criando um novo padrão, totalmente irregular.

As figuras de 16 a 23 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfícies lisas de esmalte recobertas com a substância formada por hidroxiapatita e carvão (grupo III). Observa-se uma superfície rugosa, com formações irregulares após fusão e ressolidificação do composto junto à superfície de esmalte.

Em menor aumento, observa-se nas figuras 16 e 20, que a fusão do composto ocorreu, gerando elevações em diferentes planos de profundidade e sugerindo um aumento do relevo da superfície.

As figuras 17, 18, 21 e 22 mostram uma superfície reticular, com formação de crateras e estruturas globulares. Pode-se notar a presença de inúmeras trincas na superfície irradiada.

A figura 19, mostra em evidência, uma estrutura esférica, fundida a estrutura reticular, com diâmetro de $17\mu\text{m}$.

Outra estrutura como esta é vista na figura 23, porém o diâmetro da esfera em evidência é de $7,5\mu\text{m}$

As figuras de 24 a 30 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfícies lisas de esmalte recobertas com a substância formada por esmalte e carvão (grupo IV). Observa-se a formação de uma superfície rugosa, reticular, após fusão e ressolidificação do composto junto a superfície de esmalte.

Nas figuras 24 e 28, observa-se que a fusão do composto ocorreu, gerando elevações em diferentes planos de profundidade e sugerindo aumento do relevo da superfície, porém, em menor densidade, se comparadas às figuras 16 e 20 do grupo III.

As figuras de 25, 26, 29 e 30 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfícies lisas de esmalte recobertas com carvão. Observa-se a formação de uma superfície rugosa e reticular.

A figura 27, mostra em evidência, uma estrutura esférica, fundida a estrutura reticular, com diâmetro de $5,0\mu\text{m}$.

As figuras de 31 a 36 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfícies lisas de esmalte recobertas com carvão. Observa-se a formação de uma superfície rugosa e reticular

As figuras 31 e 34 mostram uma superfície fusionada, com formações de crateras. O plano de profundidade em que ocorreram estas formações, parece estar abaixo do plano da superfície de esmalte, indicando perda de tecido dental.

As alterações morfológicas ocorridas nos grupos III, IV e V, no menor aumento, foram comparadas quanto à variação do relevo. Estes dados estão representados na tabela 2.

Tabela 2. Análise de relevo.

Amostra/nº	Auto relevo	Relevo normal	Baixo relevo
Hidroxiapatita+carvão/1.1	*		
Hidroxiapatita+carvão/2.1	*		
Hidroxiapatita+carvão/3.1	*		
Hidroxiapatita+carvão/4.1	*		
Hidroxiapatita+carvão/5.1	*		
Esmalte+carvão/1.1	*		
Esmalte+carvão/2.1	*		
Esmalte+carvão/3.1	*		
Esmalte+carvão/4.1		*	
Esmalte+carvão/5.1	*		
Carvão 1.1			*
Carvão 2.1		*	
Carvão 3.1			*
Carvão 4.1		*	
Carvão 5.1		*	

5.2 Micrografias eletrônicas de superfície oclusal

As figuras de 37 a 44 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfícies oclusal de esmalte recobertas com a substância formada por hidroxiapatita e carvão (grupo VI).

Em menor aumento, observa-se nas figuras 37 e 41, que apesar de haver alterações morfológicas na região de sulcos e fissuras, não foi possível a obliteração destes pela irradiação da substância composta por hidroxiapatita e carvão.

Observa-se nas figuras 38 e 42, áreas onde ocorreu a fusão da substância irradiada, contudo, não foi possível a obliteração de sulcos e fissuras.

As figuras 39, 40, 43 e 44 mostram uma superfície irregular, com elevações semelhantes a ondas e algumas estruturas globulares. A estrutura esférica em evidência na figura 40 possui diâmetro de 19,8 μm .

As figuras de 45 a 52 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfícies oclusais de esmalte recobertas com a substância formada por esmalte e carvão (grupo VII).

Em menor aumento, observa-se nas figuras 45 e 49, que apesar de haver alterações morfológicas na região de sulcos e fissuras, não foi possível a obliteração destes pela irradiação da substância composta por esmalte e carvão. Pode-se notar em alguns sulcos, a presença de sujeira que não foi retirada pela imersão das amostras em cuba ultrassônica.

Observa-se nas figuras 46 e 50, uma região de um sulco raso, onde ocorreu pouca fusão da substância irradiada. Muitas trincas podem ser observadas nesta região.

As figuras 47, 48, 51 e 52 mostram uma superfície irregular, com poucas elevações e algumas estruturas globulares. A estrutura esférica em evidência na figura 46 possui diâmetro de 9,23 μm .

As figuras de 53 a 60 apresentam alterações morfológicas geradas pela irradiação de superfície oclusal de esmalte recobertas com carvão.

Em menor aumento, observa-se nas figuras 53 e 57, alterações morfológicas de uma região se sulcos e fissuras recobertas com carvão e irradiada com laser de neodímio.

As figuras 54 e 58 mostram uma superfície fusionada, com regiões onde houve perda de estrutura mineral, além disto, pode-se observar a formação de inúmeras trincas.

As figuras 55, 56, 59 e 60 mostram uma superfície irregular, formando um mosaico. Grande quantidade de trincas podem ser observadas.

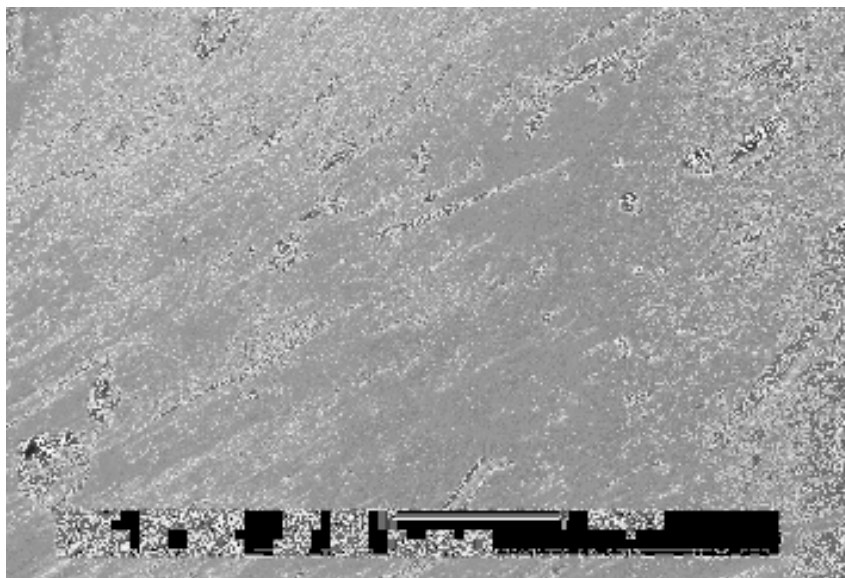


Figura 10. Micrografia de superfície lisa de esmalte não irradiada. Observa-se a superfície plana e lisa, com alguns riscos e pequenos buracos.

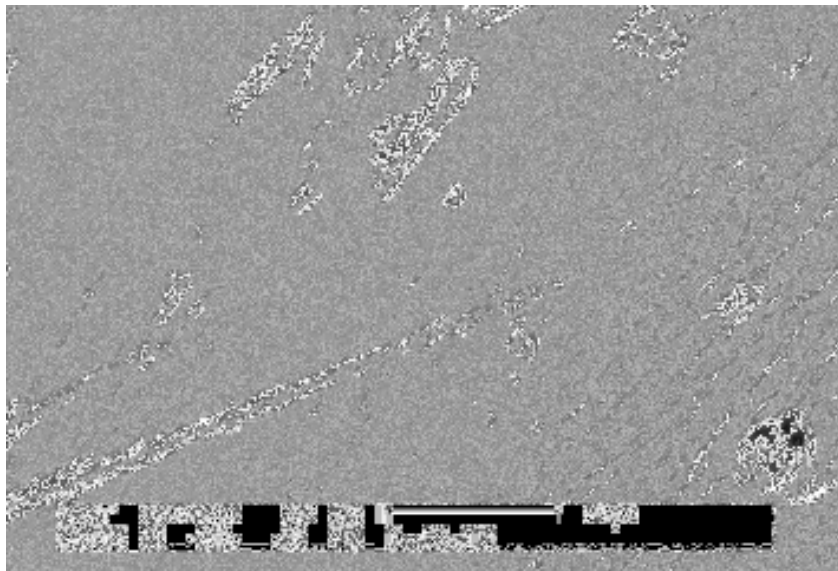


Figura 11. Micrografia de superfície lisa de esmalte não irradiada. Observa-se a superfície plana e lisa, com alguns riscos e pequenos buracos.

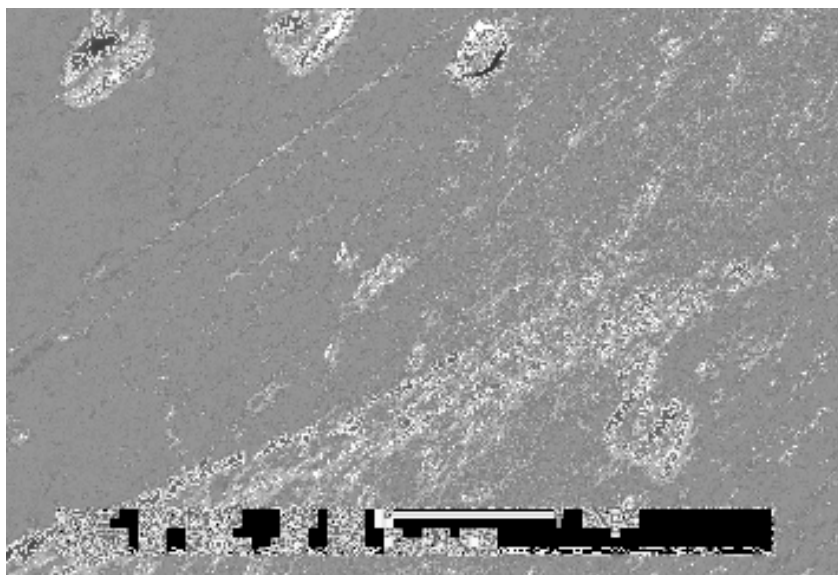


Figura 12. Micrografia de superfície lisa de esmalte não irradiada. Observa-se a superfície plana e lisa, com alguns riscos e pequenos buracos.

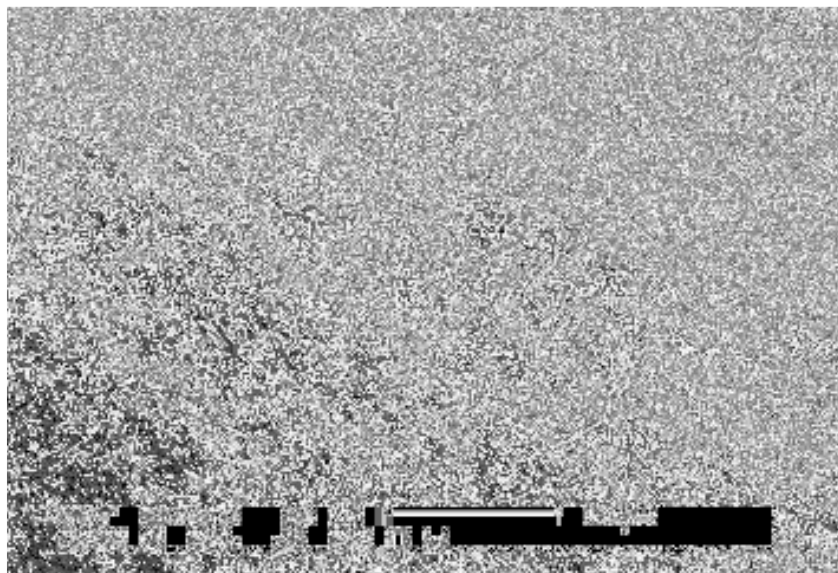


Figura 13. Micrografia de superfície lisa de esmalte irradiada com laser de Nd:YAG.

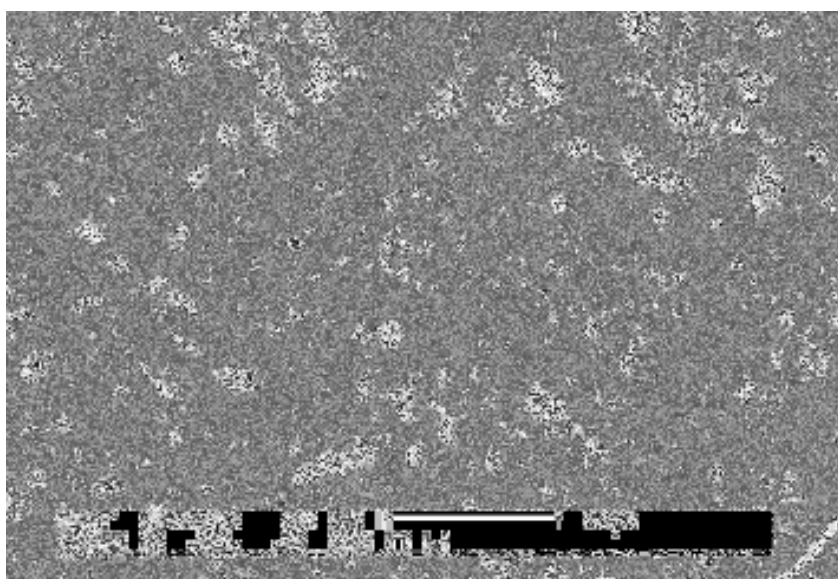


Figura 14. Micrografia de superfície lisa de esmalte irradiada com laser de Nd:YAG.

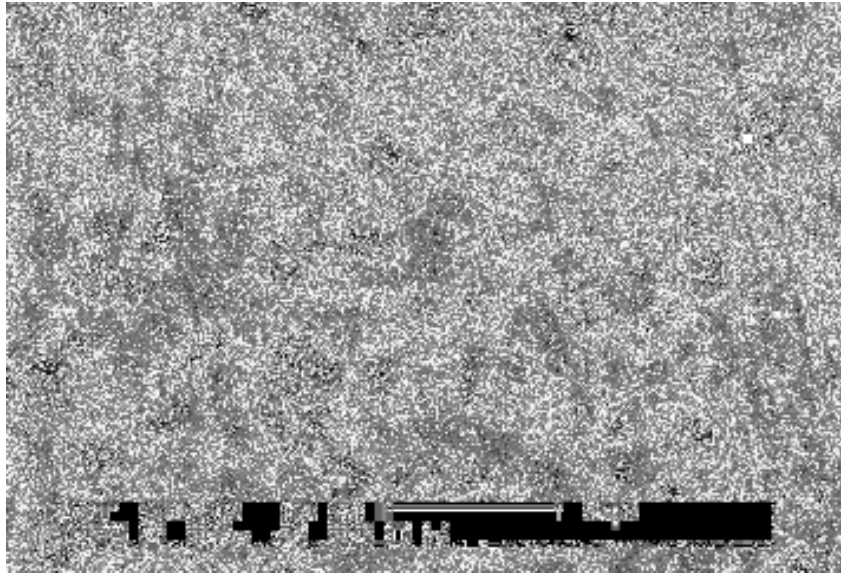


Figura 15. Micrografia de superfície lisa de esmalte irradiada com laser de Nd:YAG.

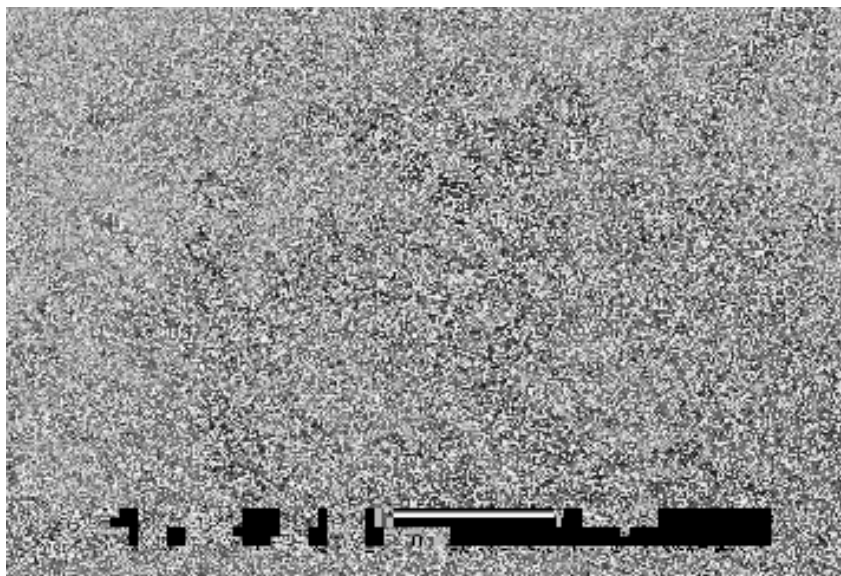


Figura 16. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

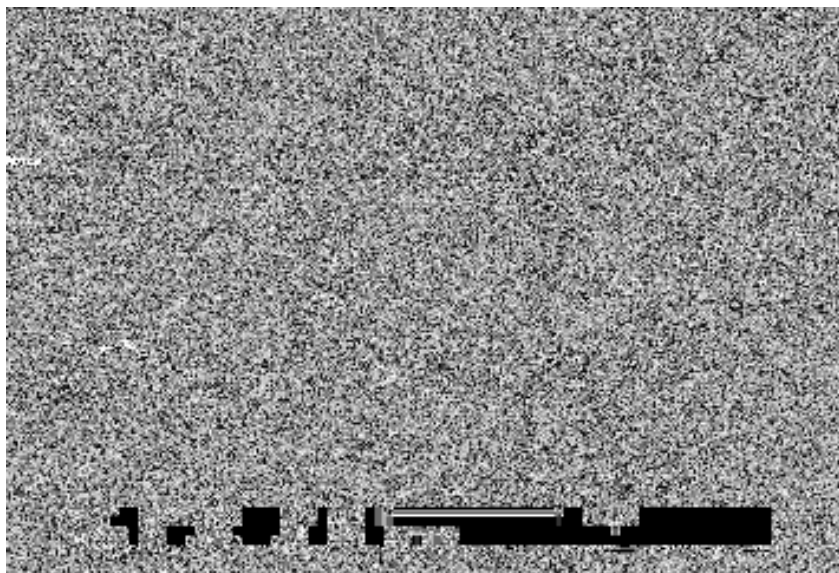


Figura 17. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

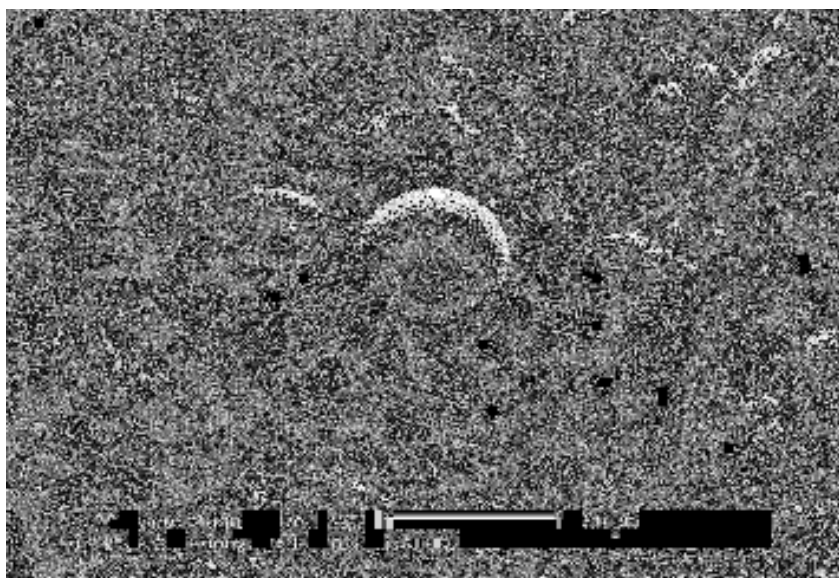


Figura 18. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

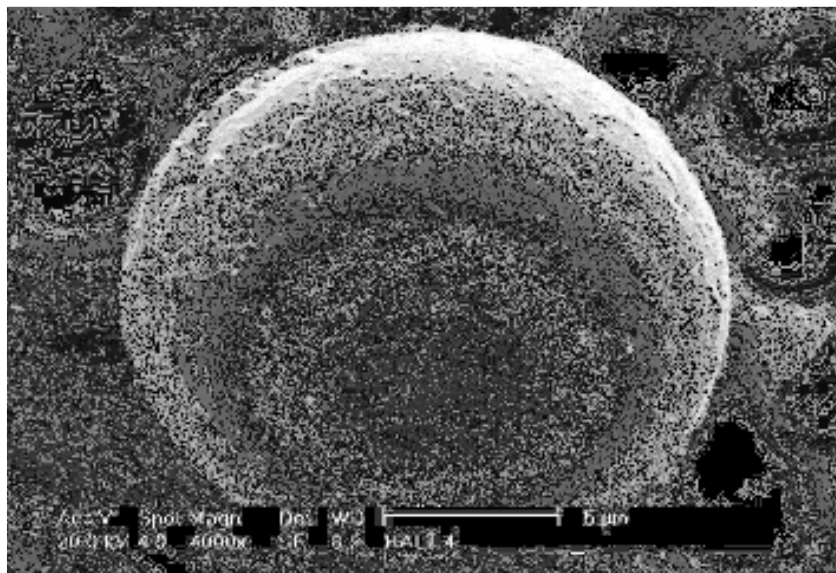


Figura 19. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

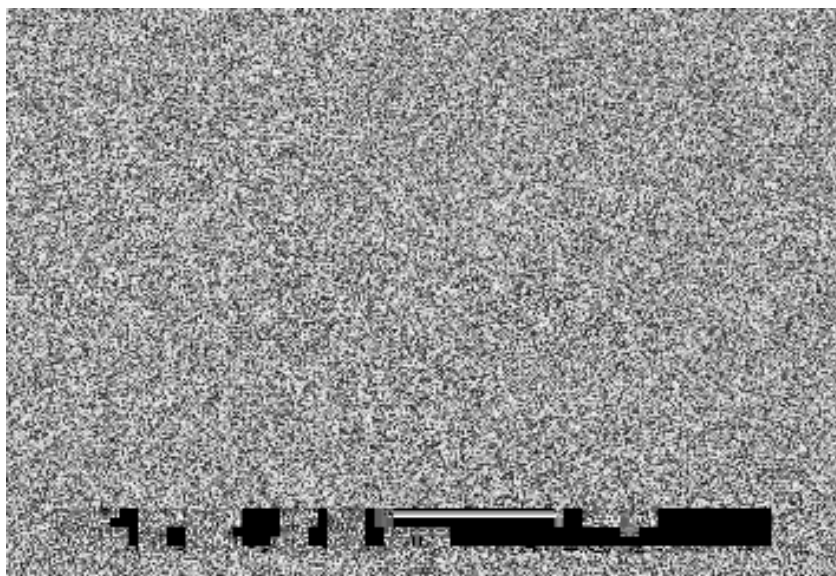


Figura 20. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

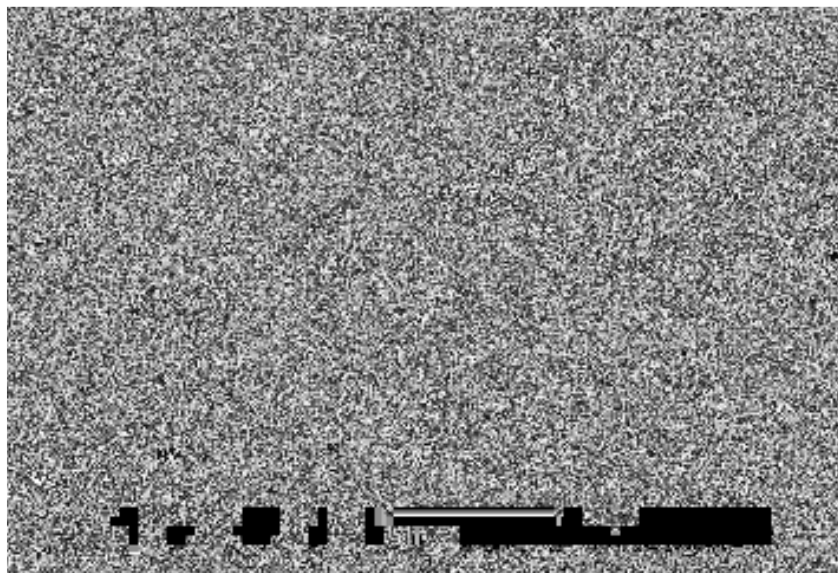


Figura 21. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

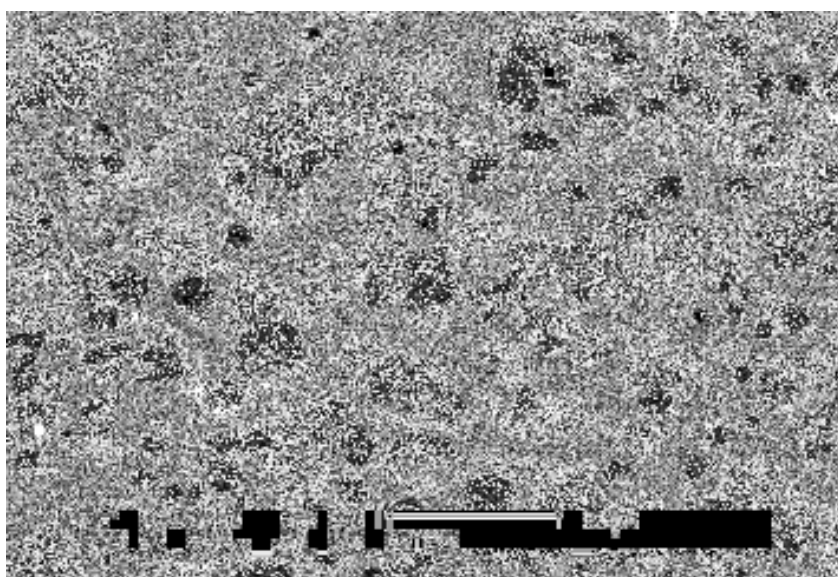


Figura 22. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

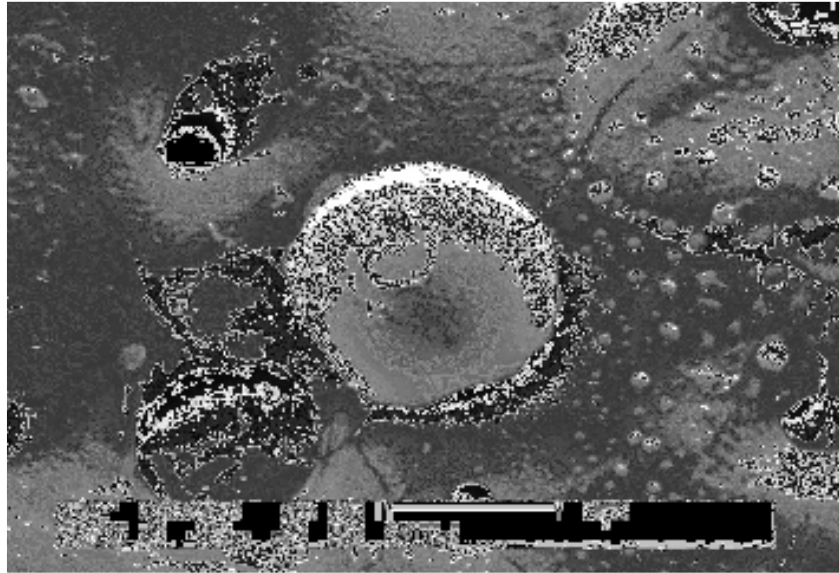


Figura 23. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

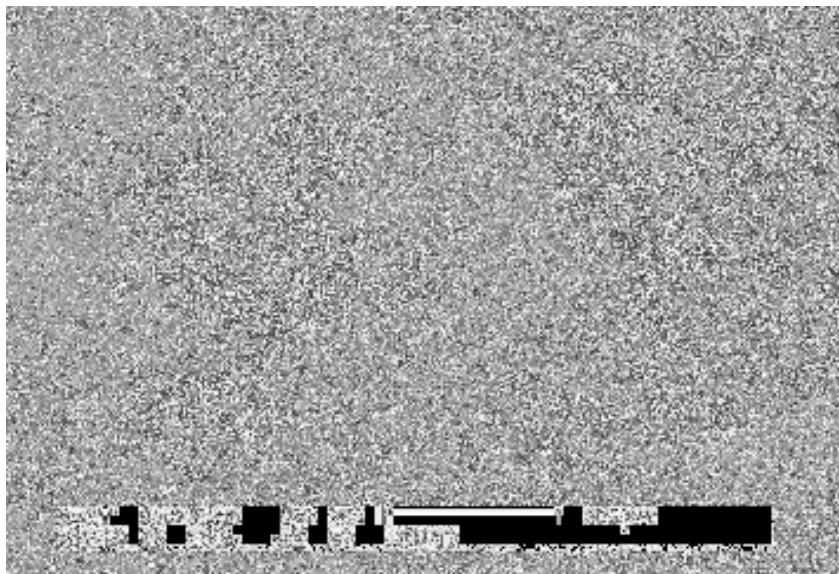


Figura 24. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

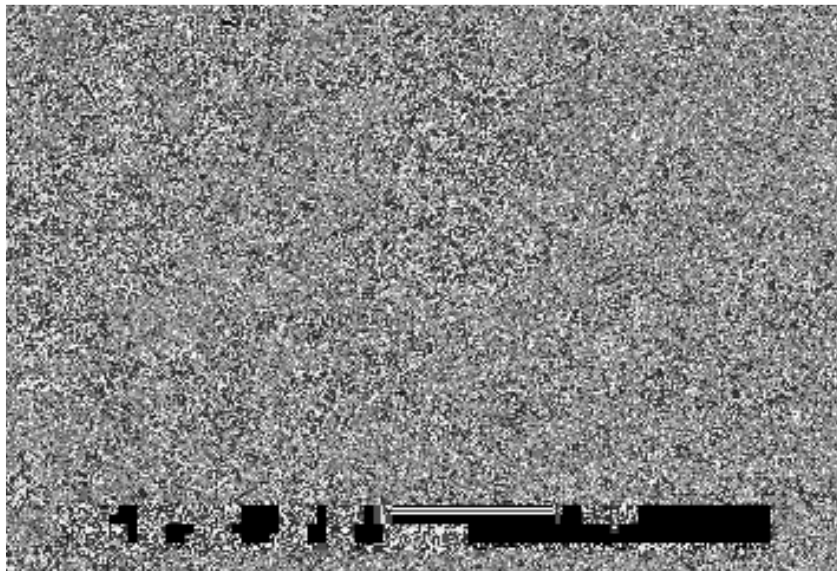


Figura 25. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

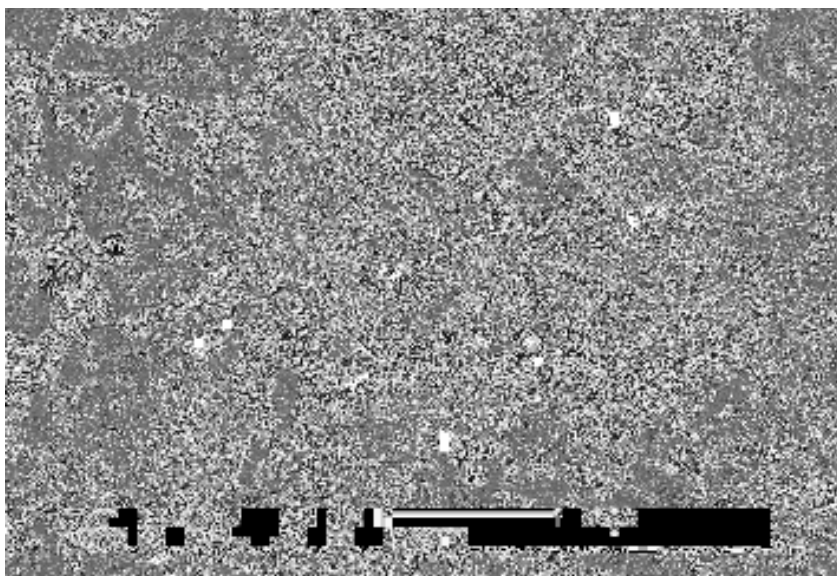


Figura 26. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

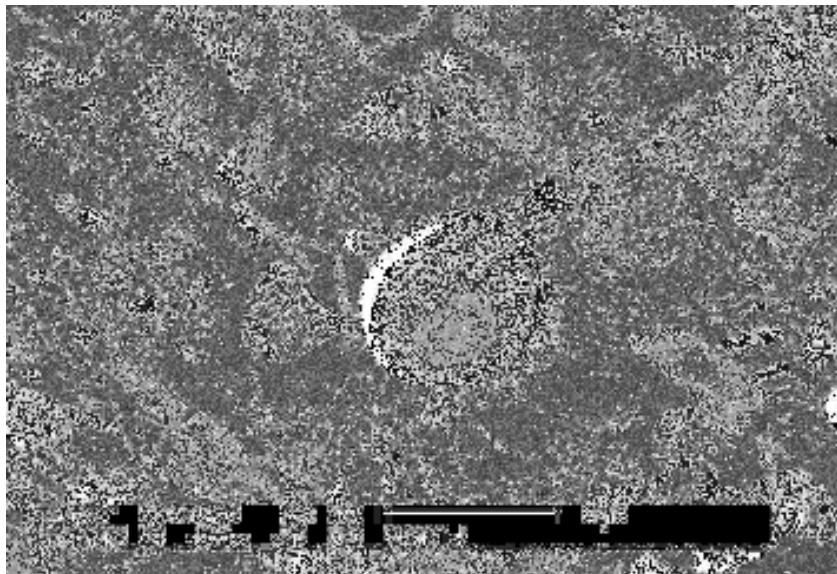


Figura 27. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

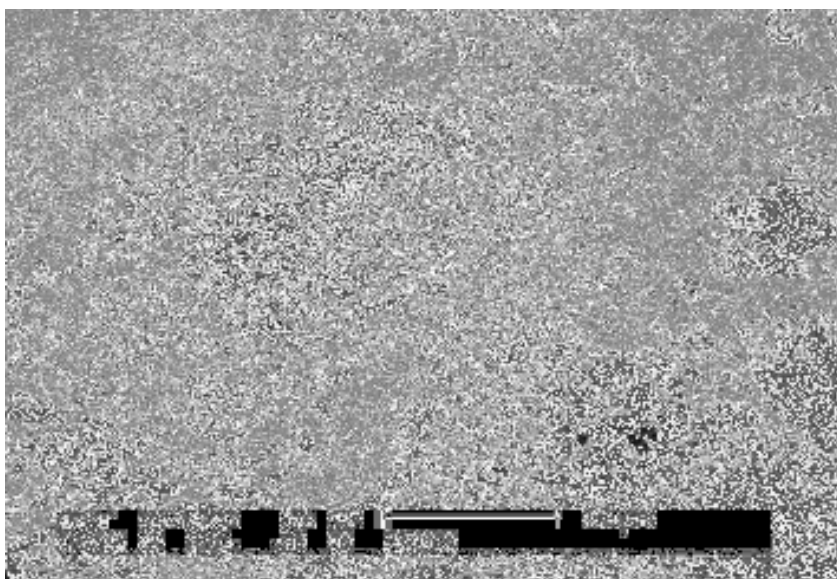


Figura 28. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

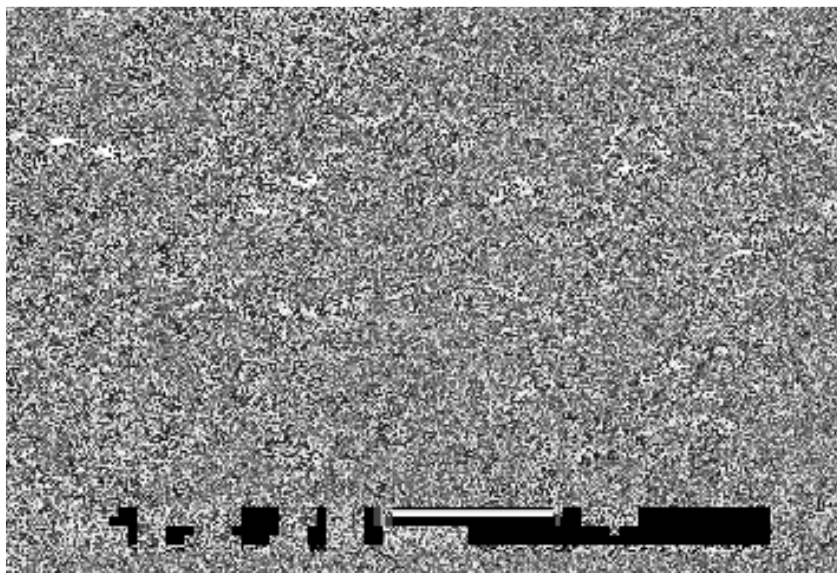


Figura 29. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

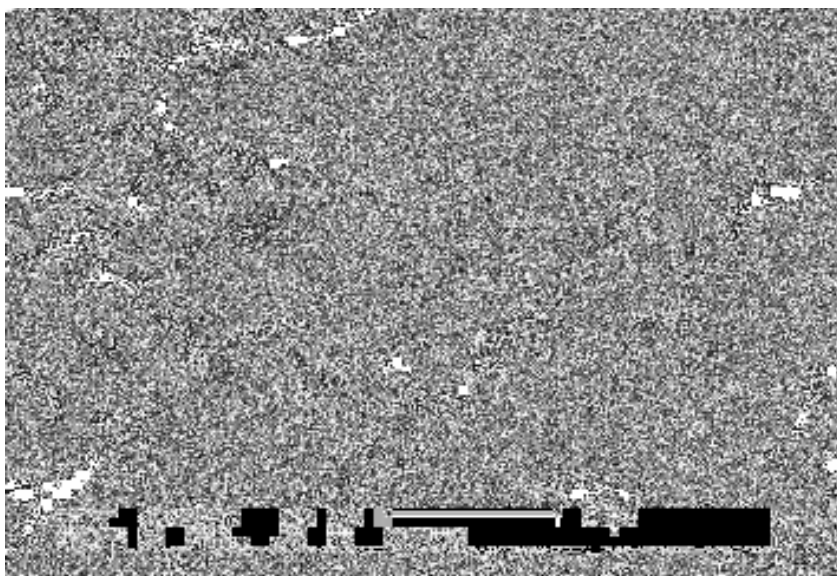


Figura 30. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

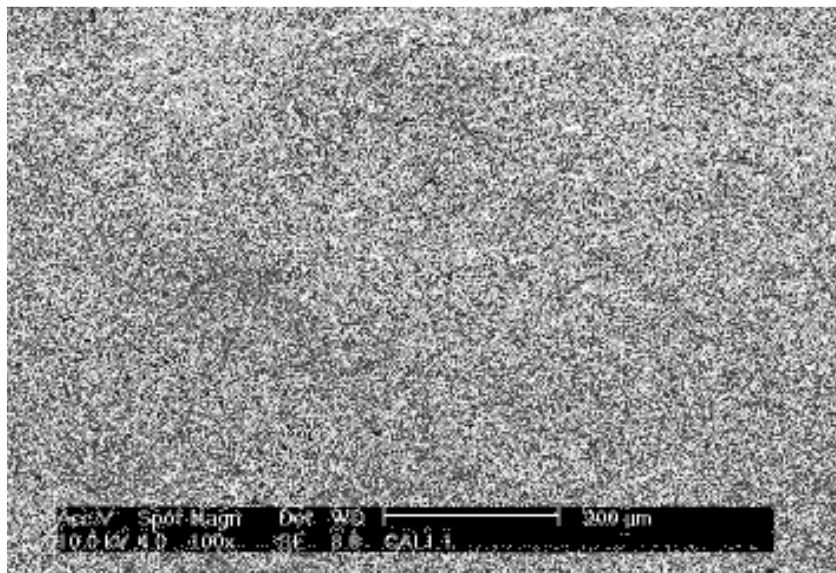


Figura 31. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

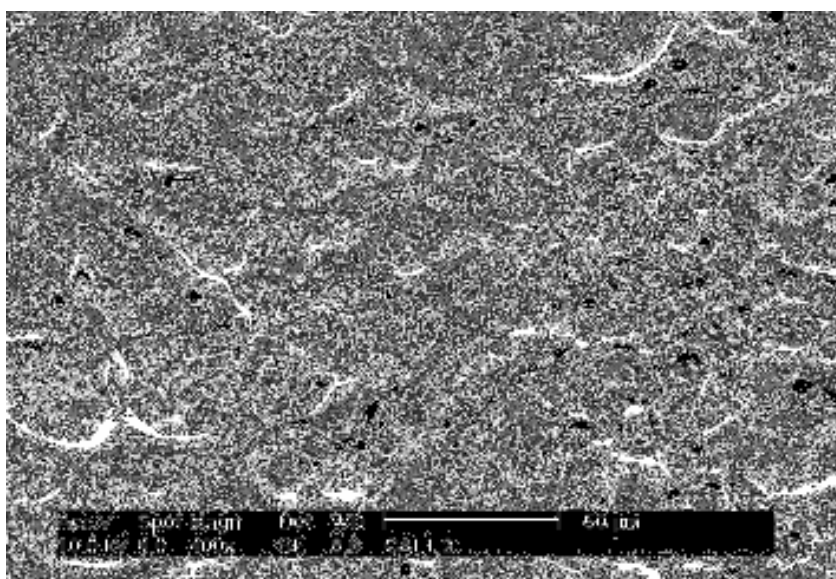


Figura 32. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

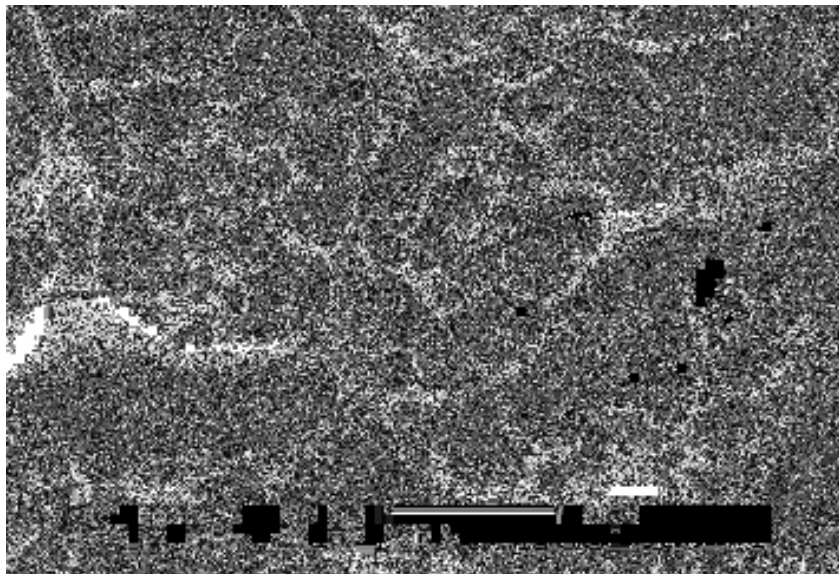


Figura 33. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

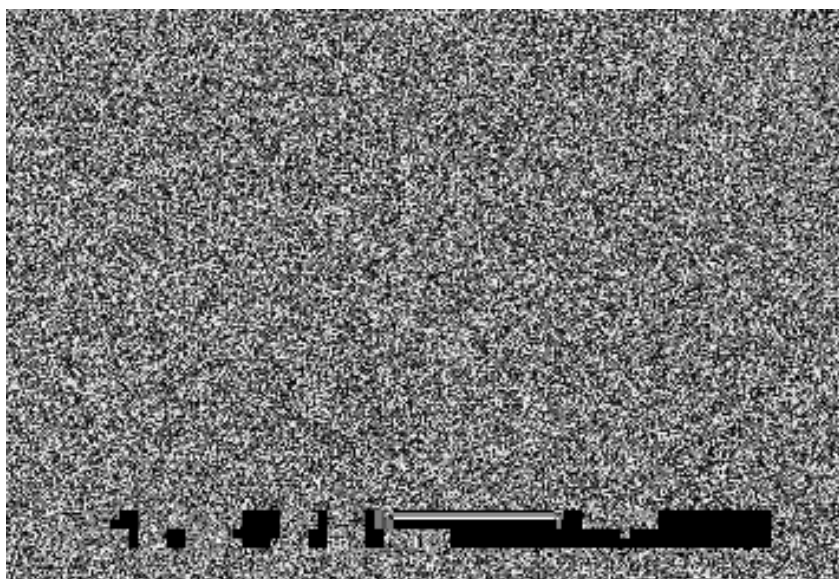


Figura 34. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

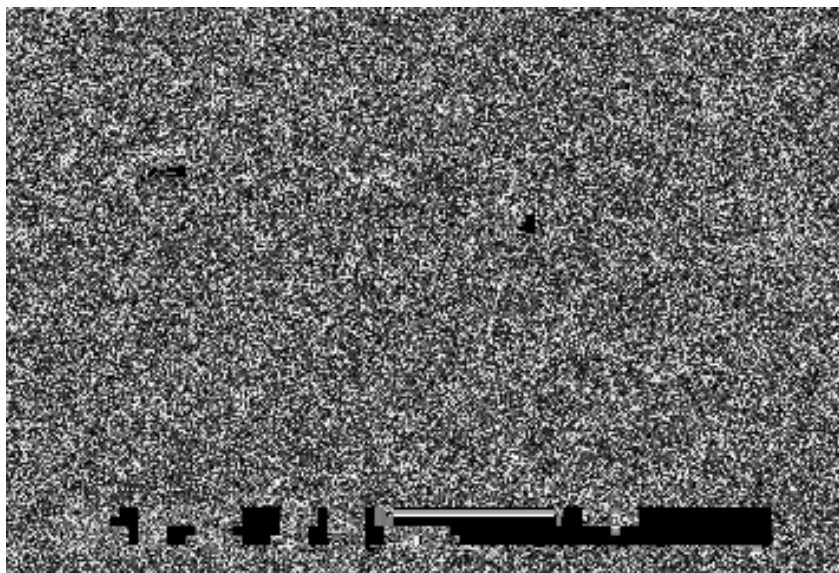


Figura 35. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

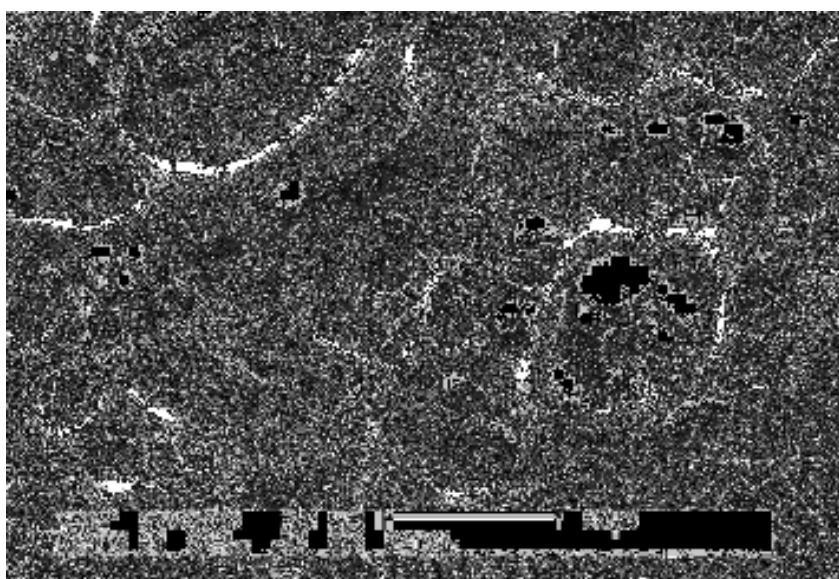


Figura 36. Micrografia de superfície lisa de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

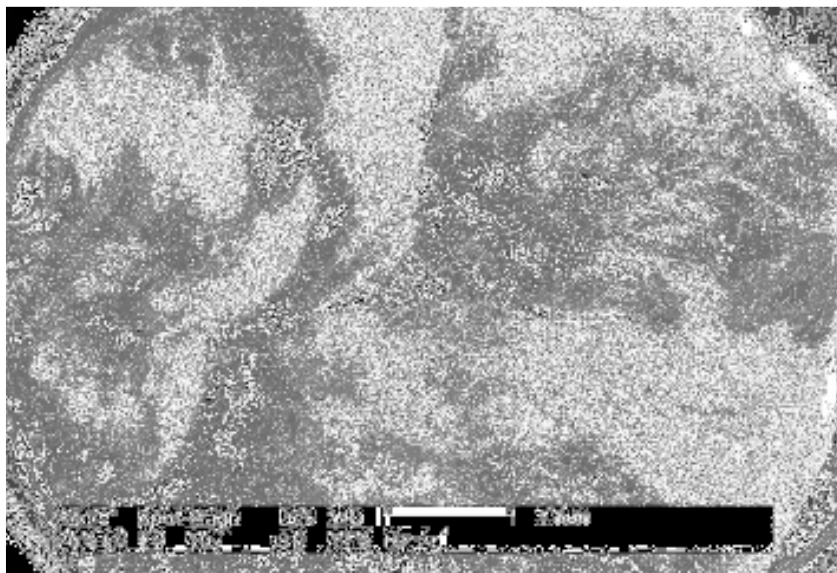


Figura 37. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

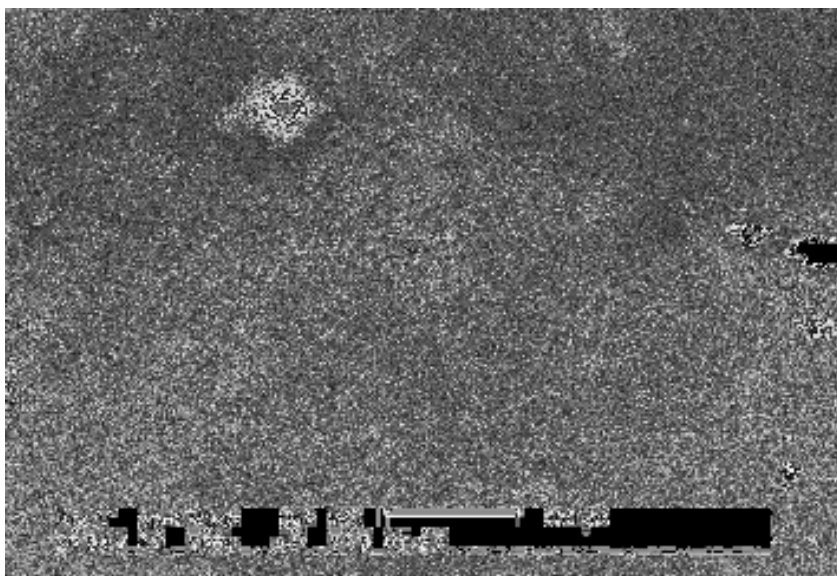


Figura 38. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

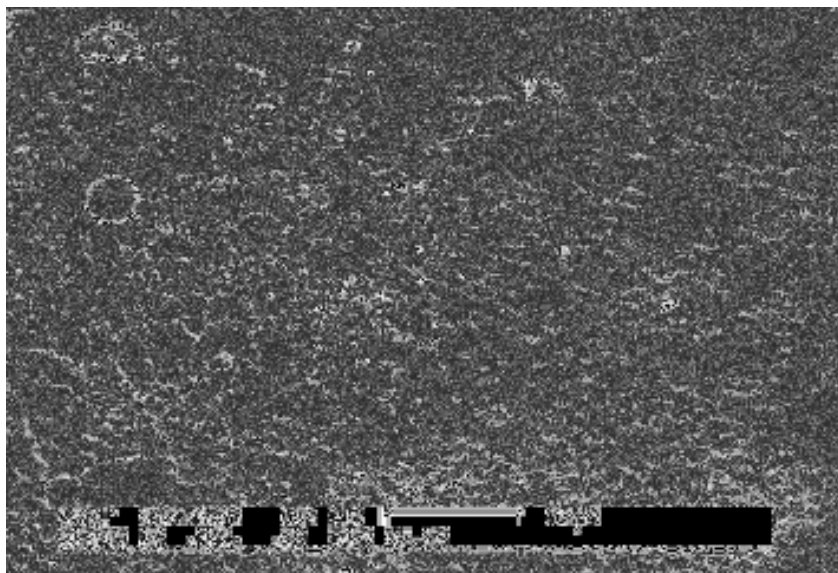


Figura 39. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

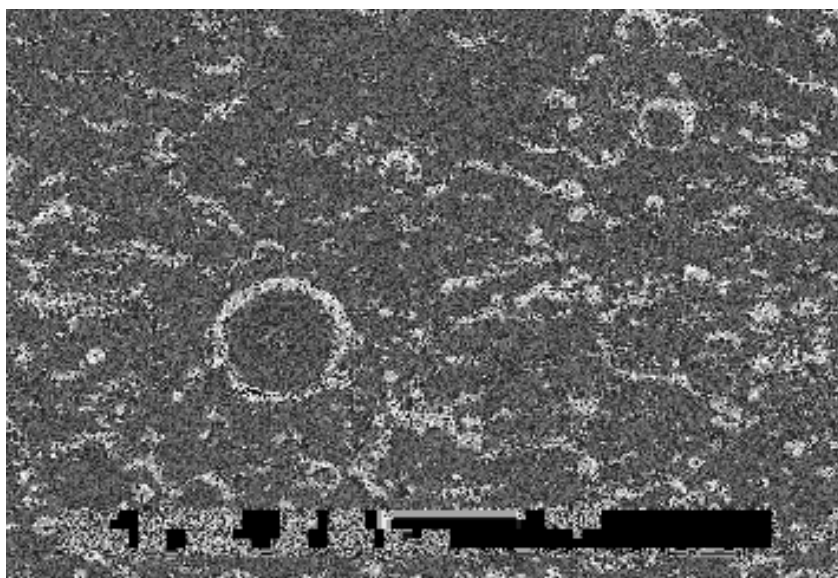


Figura 40. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

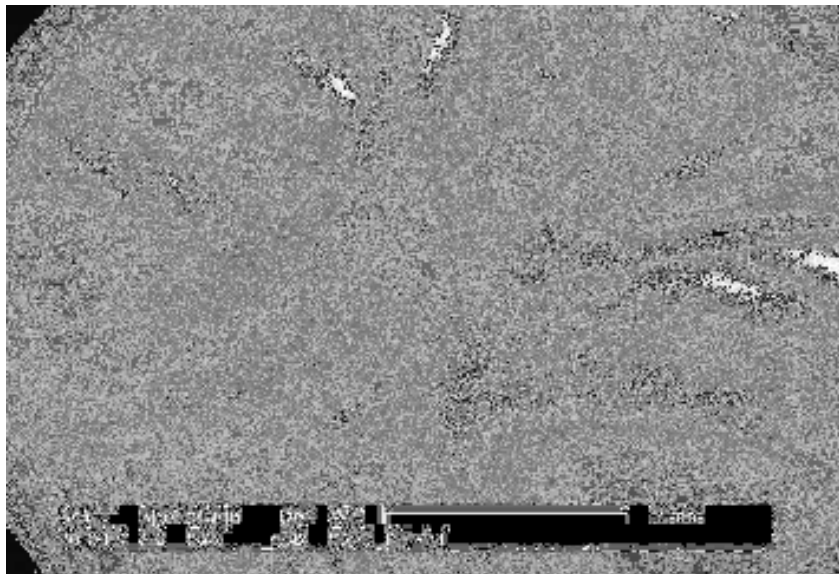


Figura 41. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

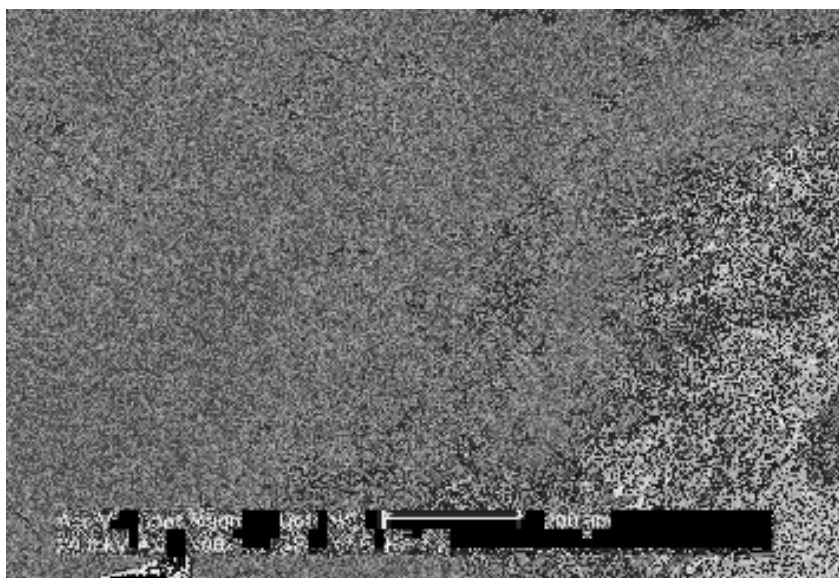


Figura 42. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

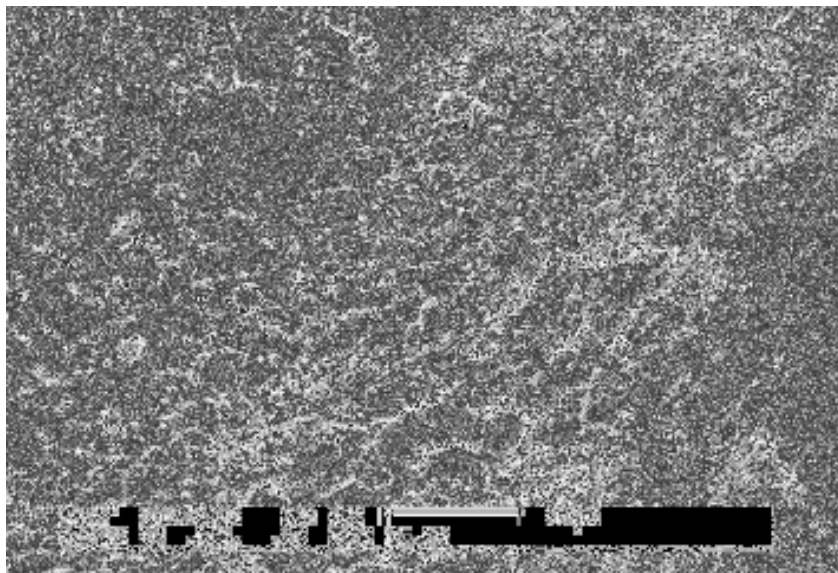


Figura 43. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

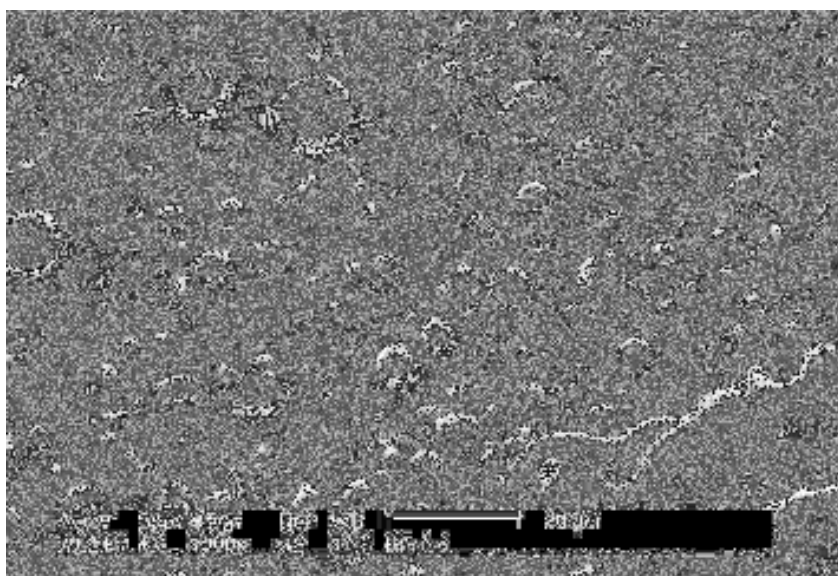


Figura 44. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com hidroxiapatita e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

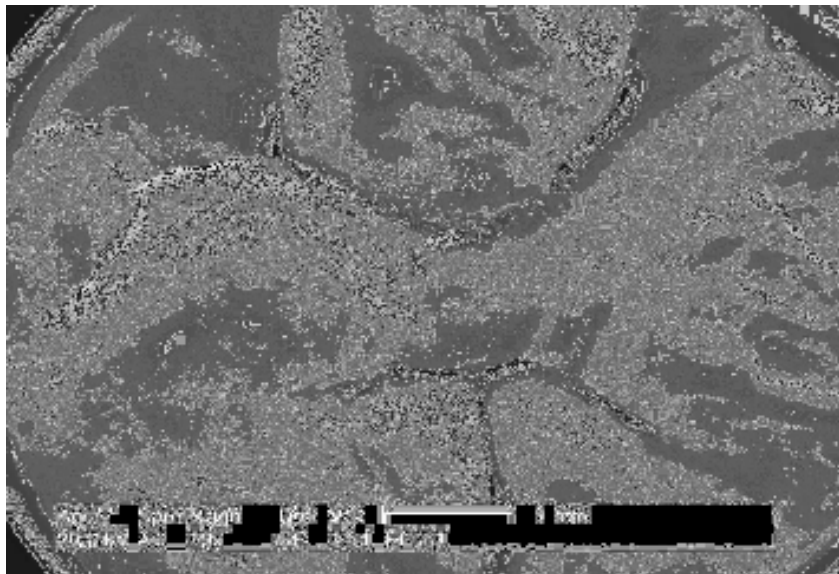


Figura 45. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

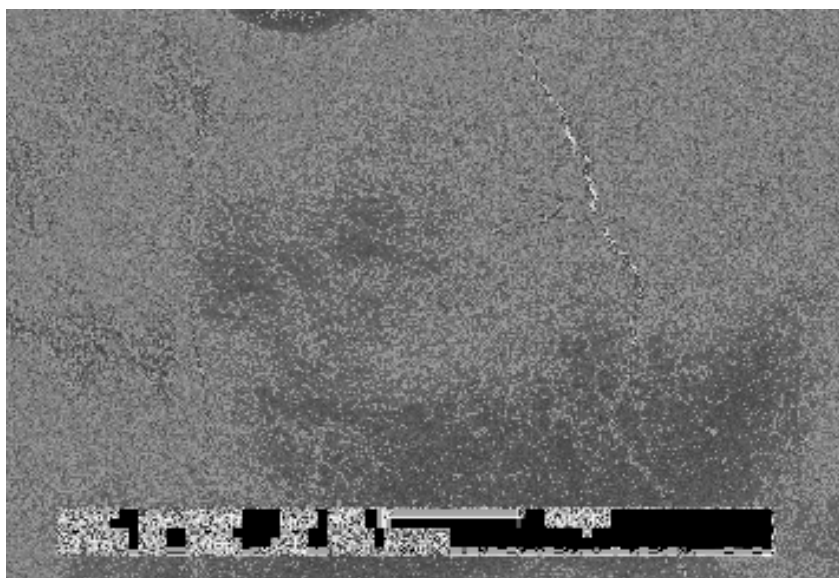


Figura 46. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

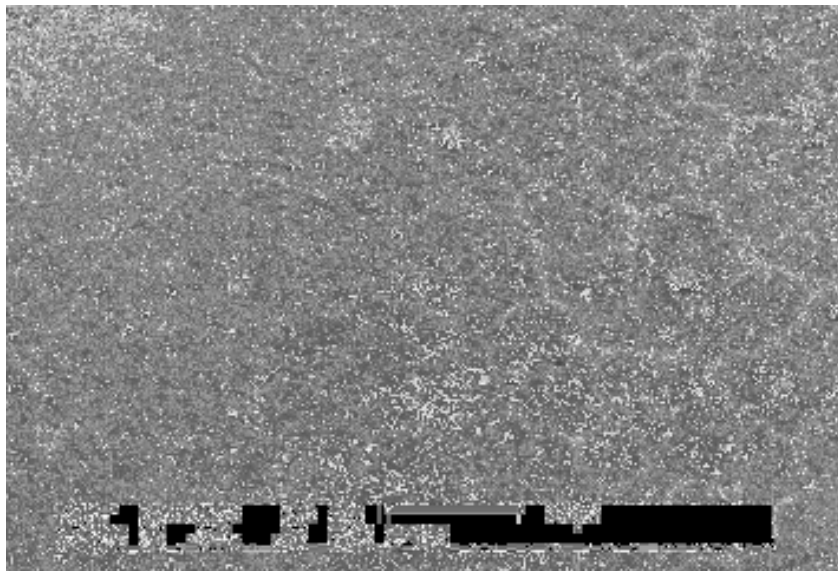


Figura 47. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

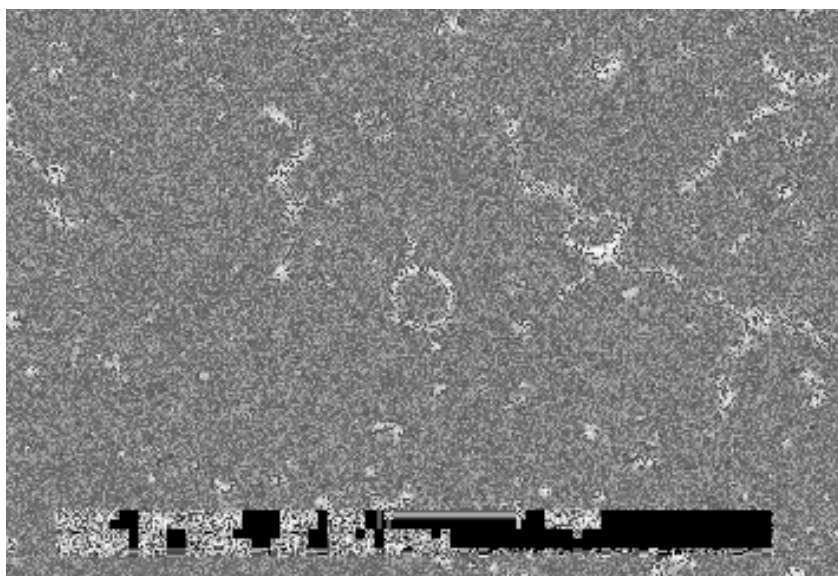


Figura 48. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

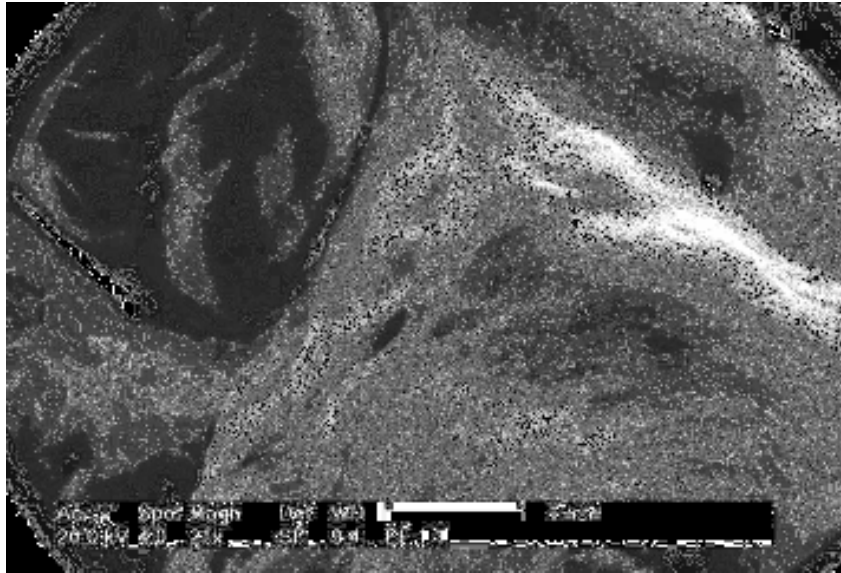


Figura 49. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

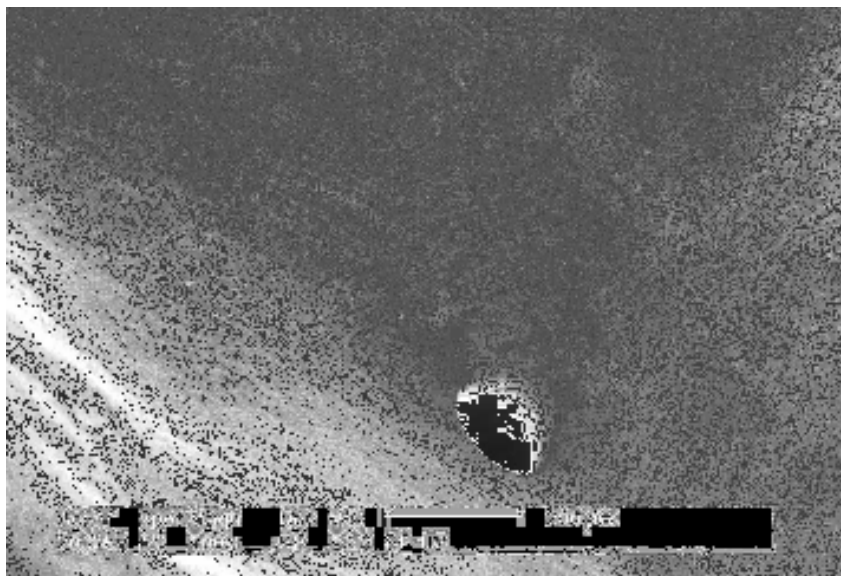


Figura 50. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

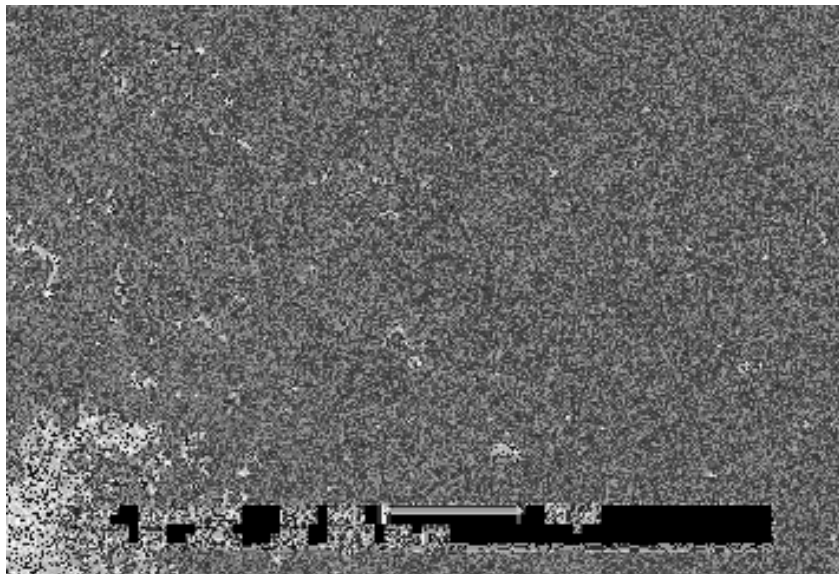


Figura 51. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

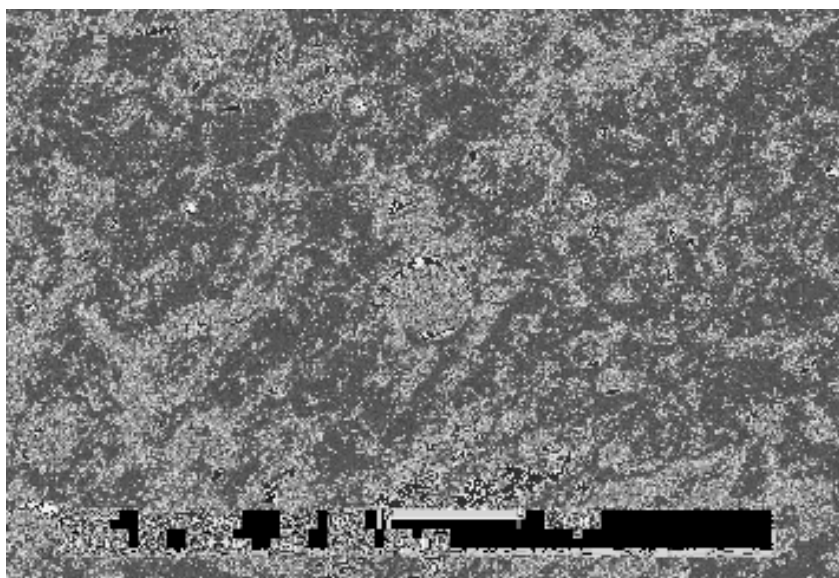


Figura 52. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com esmalte e carvão, após irradiação com laser de Nd:YAG.

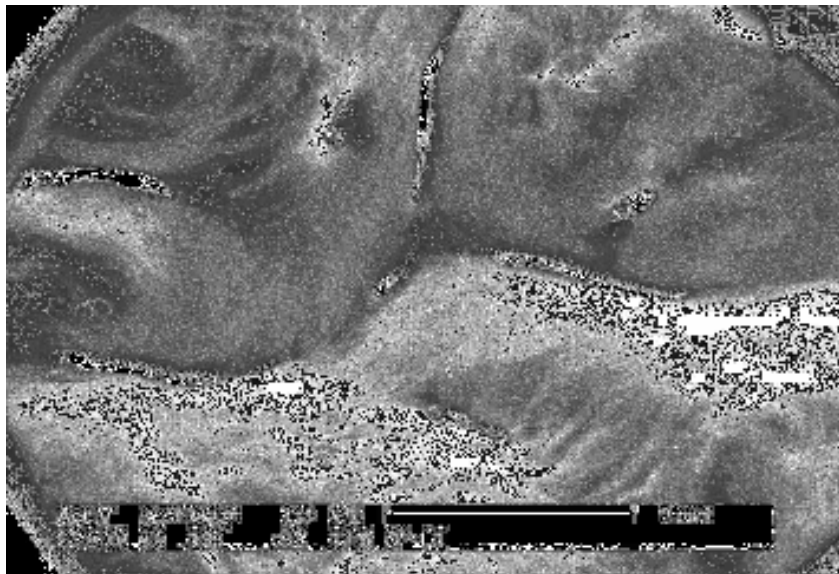


Figura 53. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

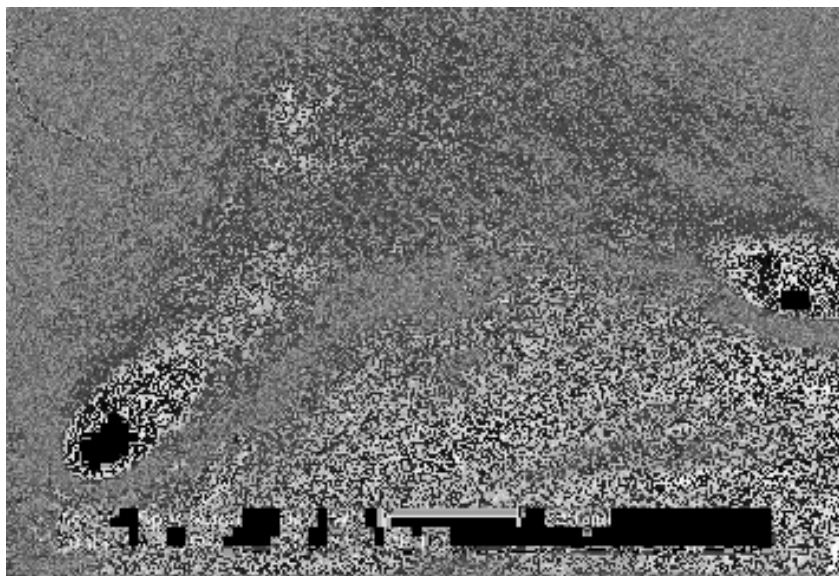


Figura 54. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

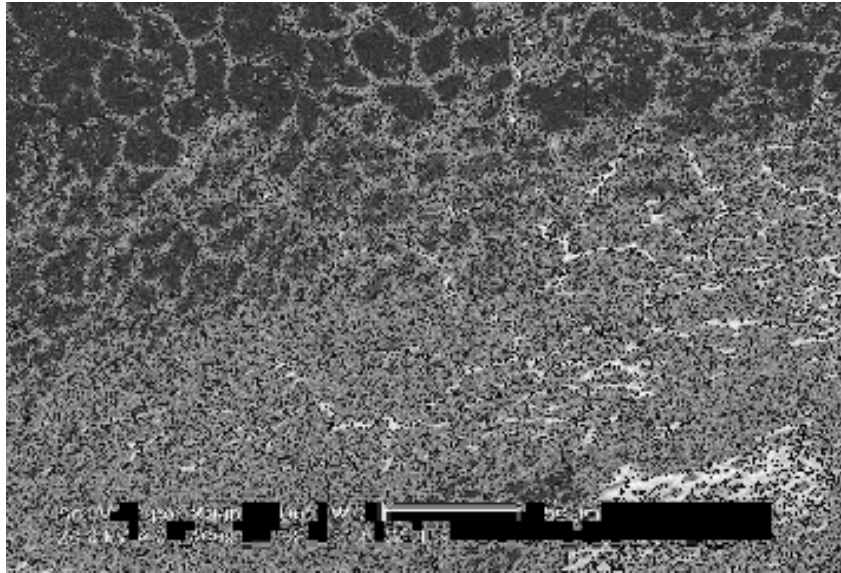


Figura 55. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

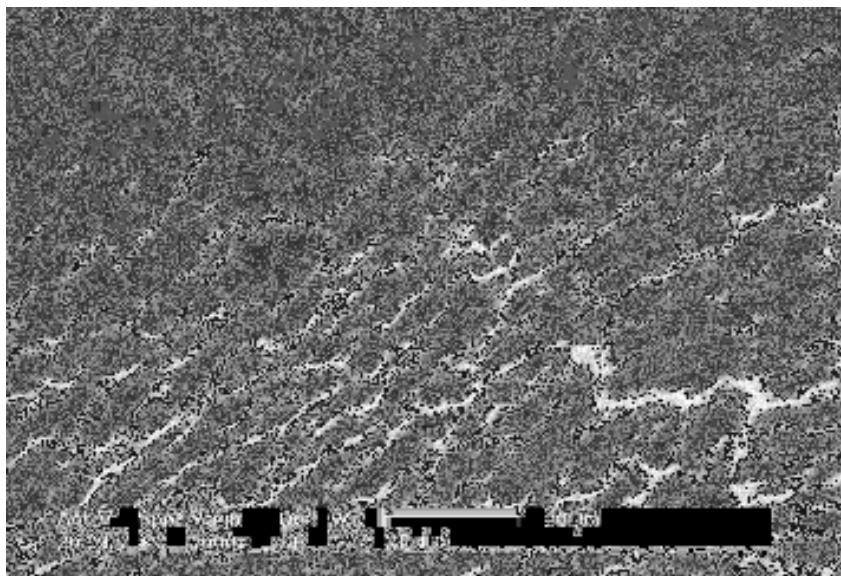


Figura 56. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

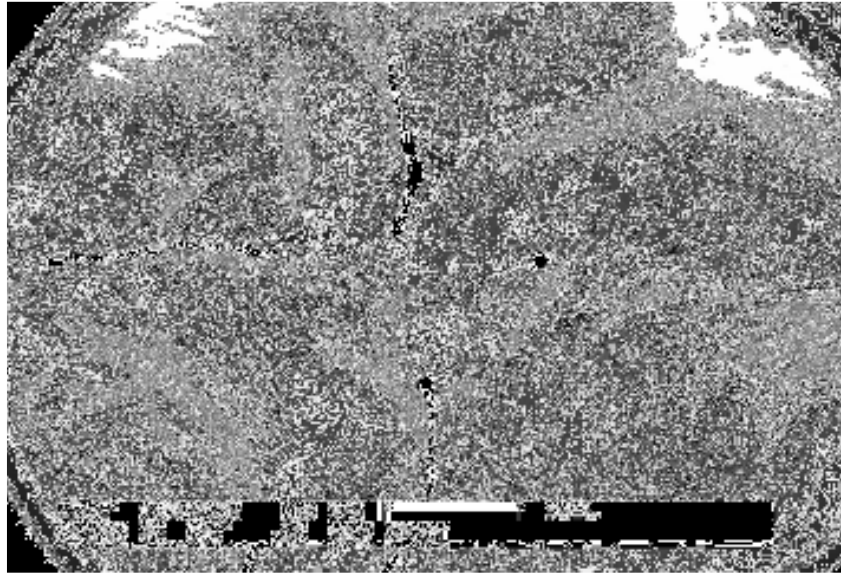


Figura 57. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

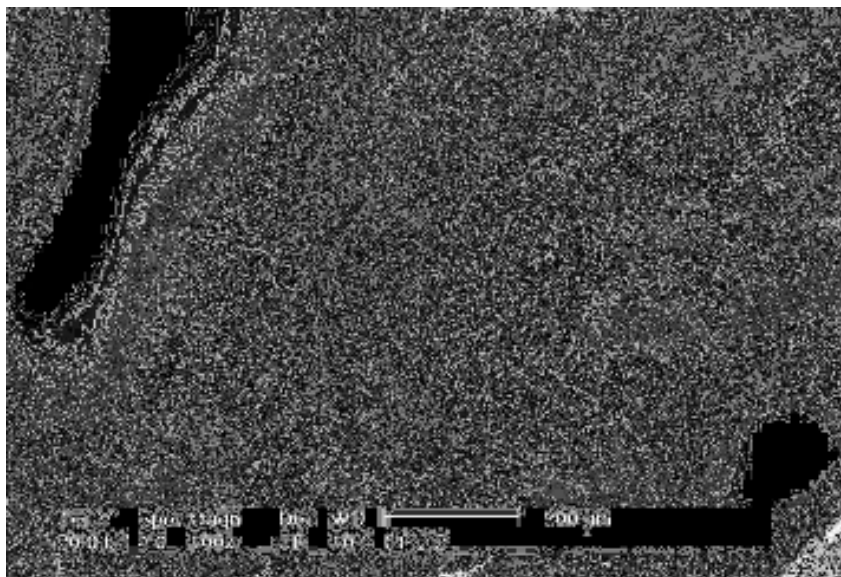


Figura 58. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

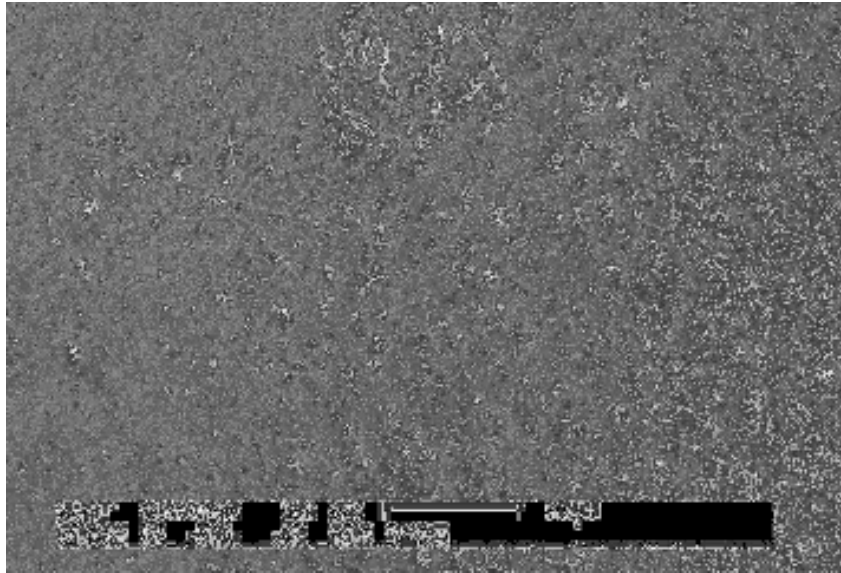


Figura 59. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

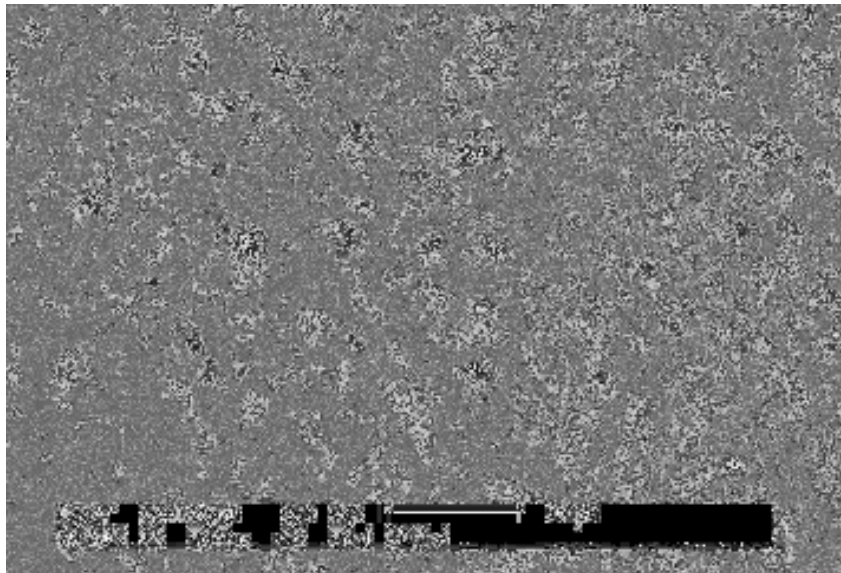


Figura 60. Micrografia de superfície oclusal de esmalte recoberta com carvão, após a irradiação com laser de Nd:YAG.

7. DISCUSSÃO

Os primeiros estudos realizados por Stern & Sognnaes⁸ mostraram que as superfícies de esmalte irradiadas com laser de rubi tornavam-se mais ácido resistente. Outros pesquisadores, utilizando diferentes tipos de laser, também chegaram a esta conclusão. O laser passou a partir de então a ser pesquisado e posteriormente utilizado como um novo método de prevenção à cárie dental.

A avaliação dos efeitos térmicos gerados pela ação dos lasers nas estruturas dentais sempre foram uma grande preocupação dos pesquisadores. Aumentos maiores que 5,5°C no interior da câmara pulpar podem levar o dente à necrose⁹¹

Com o objetivo de estabelecer parâmetros seguros para utilização do laser, estudos *in vitro* e *in vivo* foram realizados nesta área. White et al.⁸³ relatam em 1991 que a irradiação com o laser de Nd:YAG, com energias de 20mJ, 36mJ, 60mJ, 90mJ, 120mJ e 240mJ com fibra óptica de 200µm de diâmetro, é um procedimento seguro para o órgão pulpar de terceiros molares, desde que haja uma espessura de dentina remanescente maior do que 1mm.

Goodis et al.⁹² relatam em 1992, em um estudo histológico, que o laser de Nd:YAG com potência entre 0,3W e 3,0W, frequência entre 10Hz e 30Hz e energia por pulso de 30mJ a 150mJ, pode ser aplicado por um período de 2 minutos sem causar danos à polpa dental.

White et al.⁹³, em outro estudo sobre parâmetros de segurança para utilização do laser de Nd:YAG pulsado em dentina, afirmam que em dentes com

remanescentes dentinários maiores que 2mm de espessura, pode-se utilizar uma potência média de 2,0W, sem que efeitos adversos ocorram à polpa dental.

Para que ocorra um efeito térmico capaz de fundir a hidroxiapatita, é preciso que esta absorva muito bem o comprimento de onda do feixe laser. Alguns comprimentos de onda como os dos lasers de érbio (2,94 μ m), CO₂ (9,3 μ m; 9,6 μ m) e excimer ArF (0,193 μ m) são muito bem absorvidos pela hidroxiapatita. O laser de neodímio (1,064 μ m), que foi utilizado neste experimento, não é bem absorvido pela hidroxiapatita, por isso foi utilizado como foto-iniciador, o carvão vegetal micromizado. Devido à cor escura do carvão vegetal, uma vez misturado ao esmalte ou a hidroxiapatita, a absorção do laser de neodímio por estas substâncias irá aumentar significativamente.

Em algumas pesquisas realizadas no campo da prevenção da cárie oclusal pela irradiação com laser, os índices de redução de lesões foram de aproximadamente 40%. Alguns estudos *in vitro*, como os de Bahar & Tagomory⁸⁵ e Twasi et al.⁷⁹, onde o laser de neodímio foi utilizado, mostram resultados semelhantes. Além destes, o estudo de Slayton & Weffell⁹⁴, os quais utilizaram o laser de CO₂, também se encontra neste percentual de redução.

Recentemente, Boari⁹⁵ descreveu avaliações morfológicas análogas a este trabalho, em experimento *in anima nobile*, onde superfícies oclusais foram irradiadas com laser de neodímio e seqüencialmente foi aplicado o flúor fosfato acidulado. O índice de redução de cáries oclusais encontrado foi de 16,52%. Os pacientes foram avaliados por um período de um ano.

Este aumento da resistência ao ácido pelo esmalte irradiado com laser está relacionado à alteração de aspectos físicos e químicos do esmalte dental. O mecanismo ou os mecanismos exatos que explicam este fenômeno, ainda não foram totalmente elucidados. Contudo, existem algumas hipóteses que procuram explicar o aumento da resistência ao ácido do esmalte irradiado por laser, das quais podemos citar os trabalhos a seguir:

- Featherstone et al. sugerem que a fusão do esmalte promove perda de carbonatos, diminuindo a solubilidade deste esmalte frente à ação de ácidos²⁵.

- De acordo com Oho & Morioka^{74,75}, a irradiação do esmalte com o laser de neodímio provoca a perda de substância orgânica interprismática, originando micro-espaços na estrutura dental. Após a irradiação, estes espaços poderiam ser preenchidos por íons como, flúor, fosfato e cálcio, desde que expostos a eles.

- Tagomory & Lawase⁹⁶ e Rohanizadeh et al.²⁹ descrevem que após a fusão e ressolidificação do esmalte irradiado com o laser de Nd:YAG, ocorre um aumento na dimensão dos cristais de hidroxiapatita. Estes pesquisadores sugerem que este aumento pode causar maior resistência no esmalte dental.

- Morioka et al.⁹⁷ descrevem que no esmalte irradiado com laser de Nd:YAG a penetração de íons flúor é maior se comparada ao esmalte não irradiado. Os íons cálcio também apresentam comportamento semelhante, contudo, o inverso acontece com os íons fosfato. A maior incorporação de flúor no esmalte irradiado confere maior resistências a este. Este fenômeno está de acordo com o trabalho de Borggreven et al.²⁴, que descreve o aumento da permeabilidade do esmalte bovino após a irradiação com laser de CO₂.

A morfologia do esmalte dental é alterada pelo efeito térmico gerado pela absorção por parte deste, da radiação emitida pelo laser. Após a irradiação, pode ocorrer fusão e ressolidificação do esmalte. Alguns autores, citados no Capítulo 3 utilizam o termo recristalização, porém, este termo é incorreto, uma vez que existe perda mineral e conseqüente perda das características dos aspectos cristalinos deste esmalte.

Neste experimento foram utilizados hidroxiapatita e esmalte micromizados na tentativa de fundi-los ao esmalte dental. O esmalte dental é composto por aproximadamente, 96% em peso de substância mineral. Desta parte, a grande maioria é composta por hidroxiapatita, que é um fosfato de cálcio cristalino. O

intuito de se utilizar a hidroxiapatita pura e o esmalte dental nesta pesquisa é verificar se os dois materiais apresentam o mesmo comportamento durante o processo de fusão. Quando for mencionado, nesta discussão, que a hidroxiapatita absorve a radiação emitida pelo laser, entende-se que o esmalte também o faz, uma vez que este é constituído em grande parte por hidroxiapatita.

O processo de fundir hidroxiapatita não é recente. Stewart et al. publicaram em 1985 um trabalho onde procurou-se desenvolver uma técnica de selamento de sulcos e fissuras através da fusão de hidroxiapatita, utilizando-se um laser de CO₂ de emissão contínua³³. Neste trabalho de mestrado foi utilizado um laser de neodímio com comprimento de onda de 1,064µm, pulsado, com largura de pulso de 100ms.

O vedamento parcial ou total de sulcos e fissuras de pré-molares através da irradiação destes pelo laser de Nd:YAG foi descrito por Miaki⁹⁸ em um experimento *in vitro*. O autor encontrou dificuldade em selar sulcos profundos, e argumenta que o fotoiniciador utilizado (nanquim) não atingiu a profundidade necessária. A superfície rugosa, característica deste tipo de irradiação, é questionada quanto à propensão de acúmulo de placa bacteriana.

Neste trabalho, os aspectos morfológicos da superfície de esmalte fusionado, analisada por microscopia eletrônica de varredura, mostram uma superfície rugosa, com formações semelhantes a bolhas, presença de trincas, e de aspecto vitrificado⁶³.

Todas as amostras dos grupos III, IV e V apresentam diferenças morfológicas que sugerem fusão, quando comparadas à amostra do grupo I. No entanto, cabe estabelecer aqui diferenças que ocorrem entre cada um destes grupos.

Nas micrografias eletrônicas do grupo III, pode-se verificar fusão na superfície irradiada. Nota-se que existe um aumento de relevo superficial, que é indicado na tabela 2. Este fato indica que houve fusão de um material extrínseco, que neste caso foi a hidroxiapatita micromizada.

Nas micrografias eletrônicas do grupo IV, também pode-se verificar fusão na superfície irradiada. Como descrito acima, existe também nestas amostras um aumento do relevo superficial, indicando fusão do esmalte micromizado junto à superfície de esmalte da amostra.

No grupo V, verifica-se também fusão na superfície irradiada. Todavia, em nenhuma das amostras pôde-se verificar aumento de relevo, pelo contrário, em algumas amostras existem acidentes neste relevo, sugerindo que ocorreu um processo de ablação dental. Este processo de ablação pode ter ocorrido devido à grande concentração de foto-iniciador que recobria a superfície durante o processo de irradiação, tornando a absorção e conseqüente transmissão de calor muito mais intensos. Como neste grupo (controle), o intuito era verificar se realmente haveria diferenças morfológicas quanto à fusão de substâncias extrínsecas, comparadas com o a fusão do esmalte recoberto apenas com carvão, não havia nenhuma substância misturada ao carvão. Portanto se nos grupos III e IV, a concentração de hidroxiapatita e de esmalte misturados ao carvão era de 3:1 em peso, neste grupo havia quatro vezes mais carvão do que nos outros dois.

Apesar disso, as amostras, recobertas com a hidroxiapatita micromizada, apresentaram uma superfície fusionada mais densa sugerindo um aumento ainda maior de relevo. Isto pode ter ocorrido devido à constituição mais uniforme das partículas de hidroxiapatita, compondo um recobrimento mais uniforme na superfície dental e fazendo com que o processo de fusão também fosse mais uniforme.

As trincas visualizadas em algumas micrografias eletrônicas podem ter sido originadas no processo de desidratação em solução alcoólica. Outra hipótese é o fato do esmalte ser fundido e ressolidificado em um espaço de tempo muito pequeno, o que somado à pequena espessura da camada fusionada, poderia gerar trincas nesta nova estrutura.

Uma estrutura esférica pode ser vista em algumas micrografias eletrônicas. Esta estrutura não aparece em nenhum artigo de literatura sobre fusão de esmalte ou de hidroxiapatita. Supõe-se que esta estrutura seja uma partícula micromizada de esmalte ou de hidroxiapatita que não foi completamente fundida, mas que pelo efeito térmico gerado, ficou “soldada” nas estruturas fusionadas. O tamanho destas partículas variou de 4,9 μm a 20 μm , e estão de acordo com o tamanho das partículas analisadas e descritas nas figuras 6 e 7

Em algumas amostras recobertas apenas com carvão vegetal no grupo V, houve perda de estrutura mineral, uma vez que crateras foram visualizadas nestas superfícies, gerando um relevo mais baixo que o normal (tabela 2). O efeito térmico ocasionado pelo laser de neodímio sobre o pó de carvão foi maior do que o necessário para que houvesse apenas fusão da superfície de esmalte, ocorrendo então, além da fusão, ablação de tecido dental.

Após um dado comprimento de onda ser absorvido por um tecido, a principal interação que ocorre é térmica. Esta interação depende de parâmetros ópticos do tecido (coeficiente de absorção) e do laser (fluência, taxa de repetição, tempo de exposição), assim como dos parâmetros térmicos do tecido (condutividade térmica e capacidade térmica). Ocorrerá então a geração de calor durante a exposição laser que é responsável pela fusão dos materiais extrínsecos utilizados neste trabalho e subsequente transmissão de calor para o dente, principalmente, por condução.

Para o caso desta dissertação, o laser de neodímio 1,064 μm (onde há pouca absorção de água de hidroxiapatita) com largura de pulso de 100 μs , o tempo de relaxação térmica é da ordem de minutos e a condução de calor se dá para profundidades da ordem da profundidade de penetração óptica deste comprimento de onda. Com a adição do foto-iniciador a condução do calor é aumentada.

Devem ainda ser considerados os efeitos da taxa de repetição dos pulsos laser no transporte de calor. Uma alta taxa de repetição pode provocar um

aumento cumulativo de temperatura, podendo causar danos nas estruturas dentais.⁹⁹

Como pode ser observado nas figuras 18,19, 22, 23, 26, 27 e 30 houve a fusão da hidroxiapatita micromizada e do esmalte micromizado no esmalte das amostras irradiadas, com o aparecimento de algumas estruturas esféricas, provavelmente geradas à partir da grande diferença de temperatura do dente e da camada superficial exógena do foto-iniciador. Esta diferença é um dos fatores responsáveis pela formação destas estruturas esféricas, fundidas junto ao esmalte dental. Cujas conformações esféricas são as mais estáveis.

Os resultados obtidos em superfície lisa de esmalte irradiada mostram claramente que a fusão de hidroxiapatita e de esmalte micromizados, misturados a um foto-iniciador, é possível através da irradiação com o laser de neodímio. Os resultados encontrados nas micrografias de superfície oclusal também confirmam este fato.

As amostras dos grupos VI, VII e VIII também apresentam aspectos de fusão concordantes com os descritos nos grupos III, IV e V. O objetivo da inclusão destas amostras no experimento, foi o de verificar se o processo de fusão de hidroxiapatita e carvão micromizados seria capaz de selar sulcos e fissuras oclusais, reduzindo assim a profundidade destas regiões e hipoteticamente diminuindo a área de adesão dos microorganismos causadores da cárie.

A obliteração total de sulcos e fissuras pela irradiação de hidroxiapatita e esmalte micromizados, em um aspecto macroscópico (figuras 37, 41, 45 e 49) ou até mesmo microscópico (figuras 38, 42, 46 e 50), não foi possível. Alguns sulcos rasos e pequenos acidentes foram suavizados com o processo de fusão. Sulcos profundos possuem um volume grande para ser preenchido com partículas micromizadas que serão posteriormente fundidas, porém se partículas maiores fossem utilizadas, estas não penetrariam no interior dos sulcos e fissuras. Outro fator que dificulta o selamento é o fato dos pulsos gerados pelo laser, que provocarem uma dispersão do material de revestimento, impedindo que haja uma uniformidade na adesão deste material durante o processo de irradiação.

O objetivo de selar um sulco é impedir o acúmulo de restos alimentares e de bactérias cariogênicas em um nicho retentivo, que não pode ser higienizado pela escovação diária. Afirmar que o selamento de sulcos rasos é uma vantagem ou mesmo um avanço na odontologia preventiva, pode ser considerado um contra-senso. Estes sulcos não necessitam ser selados, pois não são retentivos e podem ser perfeitamente higienizados.

Os fatores positivos da irradiação de sulcos e fissuras com o laser de neodímio, que podem ser descritos até o presente momento, são a limpeza destes nichos, que segundo Bahar & Tagomory⁸⁵ promove uma significativa redução bacteriana; o aumento da resistência ao ácido do esmalte irradiado e o aumento da incorporação de íons flúor, quando flúor fosfato acidulado é aplicado após a irradiação.

Estudos microbiológicos para determinar se as superfícies originadas do tratamento realizado nesta dissertação comportam-se de maneira semelhante ao descritos na literatura devem ser futuramente realizados para determinar a ácido resistência deste esmalte tratado.

Outro questionamento, a respeito do aumento da resistência do esmalte irradiado ao ácido produzido por bactérias cariogênicas, é a durabilidade em termos clínicos desta resistência. A avaliação do tempo necessário para que ocorra abrasão mecânica desta camada de esmalte tratado, também deve ser pesquisado.

A redução do ponto de fusão de um composto de hidroxiapatita através de uma mistura eutética e a elaboração deste, em um estado físico mais viscoso, possibilitaria maior escoamento após a irradiação com o laser. Sendo assim, o produto da fusão poderia obliterar sulcos e fissuras, ou até mesmo pequenas cavidades. Futuras pesquisas nesta área poderão determinar um novo material restaurador na odontologia.

8. CONCLUSÕES

Baseados nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- 1- A irradiação de esmalte dental com o laser de Nd:YAG pulsado com densidade de energia de $113,1\text{J}/\text{cm}^2$, 80mJ e 15Hz foi capaz de fundir a hidroxiapatita micromizada misturada ao carvão vegetal na proporção de 3:1 em peso.
- 2- A irradiação de esmalte dental com o laser de Nd:YAG pulsado com densidade de energia de $113,1\text{J}/\text{cm}^2$, 80mJ e 15Hz foi capaz de fundir o esmalte micromizado misturado ao carvão vegetal na proporção de 3:1 em peso.
- 3- A irradiação de esmalte dental recoberto com carvão vegetal através do laser de Nd:YAG, com densidade de $113,1\text{J}/\text{cm}^2$ é capaz de provocar fusão do esmalte superficial e em alguns casos ablação deste.
- 4- O processo de fusão dos diversos materiais descritos neste trabalho não foi capaz de selar totalmente sulcos e fissuras oclusais.

9. ANEXOS

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ YAMAMOTO, H.; OOYA, K. Potential of yttrium-aluminum-garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol*, v.3, n.1, p. 7-15, Jan./feb. 1974.
- ² BOWDOWN, G.; EDWARSSON, S. Ecologia oral e a cárie dentária. In.; THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica* . 2^a. ed. Livraria Editora Santos. 1995.
- ³ LOESCHE, W. J. *Cárie Dental: uma infecção tratável*. Editora Cultura Médica. 1993.
- ⁴ KRAMER, P. F.; FELDENS, C. A.; ROMANO, A. R. *Promoção de saúde bucal em odontopediatria*. Editora Artes Médicas. 1997.
- ⁵ KOCH, G.; FEJERSKOV, O.; THYLSTRUP, A. Flúor no tratamento da cárie – implicações clínicas. In.; THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2^a. ed. Livraria Editora Santos. 1995.
- ⁶ BEZERRA, A. C. B.; TOLEDO, O. A. Nutrição, dieta e cárie. In ABOPREV. *Promoção de saúde bucal*. Editora Artes Médicas. 1997.
- ⁷ TENOVUO, J.; LAGERLÖF, F. Saliva. In.; THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica* . 2^a. ed. Livraria Editora Santos. 1995.
- ⁸ STERN, R. H., SOGNAES, R. F. Laser beam effect on dental hard tissues. In: INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH. General Session & Exhibition, 42., Mar. 19-22, 1964. Abstracts of papers. Los Angeles, *J Dent Res*, v.43, p. 873, 1964. [Resumo n.307]

-
- ⁹ MAILLET, H. O laser: princípios e técnicas de aplicação. São Paulo, Ed Manole, 1987.
- ¹⁰ GARAVAGLIA, M. El laser. México, Ed. Eva v. Chesneau, 1976.
- ¹¹ SVELTO, O. *Principles of Lasers*. Ed. Plenum Press, New York, 1989.
- ¹² EINSTEIN, A. Zur quantentheorie der strahlung. *Phys Z*, v.18,p.121-128, 1917.
- ¹³ GORDON, J.P., ZEIGER, H.J., TOWNES,C.H. The Maser – new type of microwave amplifier, frequency standard and spectrometer, *Phys Rev*, v.99, p.1264-1274, 1955.
- ¹⁴ MAIMAN, T.H. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, London, v. 187, p.493-494, 1960.
- ¹⁵ JAVAN, A., BENNET Jr, W.R., HERRIOT, D.R. Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a He-Ne mixture. *Phys Rev Let*, v.6, n.3, p. 106-110, 1961.
- ¹⁶ PATEL, C.K.N. Interpretation of CO₂ optical maser experiments. *Phys Rev Let*, v.12, p.588-590, 1964.
- ¹⁷ WETTER. N. U. Fibra óptica. *Apostila do Mestrado profissionalizante Laser em odontologia*. 1999.
- 18 TEM CATE, A. R. *Histologia Bucal*. Guanabara Koogan. R.j. 1895.
- 19 TAGOMORI, S.; MORIOKA, T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res*, v.23, n.4, p.225-31, Jul/Aug. 1989.

-
- ²⁰ KELLER, U.; HIBST, R. Ultrastructural changes of enamel and dentin following Er:YAG laser radiation on teeth. In: LASER SURGERY: ADVANCED CHARACTERIZATION THERAPEUTIC, AND SYSTEMS II. 1990. *Proceedings*. Califórnia: The International Society for Optical Engineering, 1990. v.1200, p. 408-415.
- ²¹ STERN, R. H.; VAHL, J.; SOGNAES, R.F. Laser enamel ultrastructural observation of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res*, v.51, n.2, p.455-460, Mar./Apr. 1972.
- ²² YAMAMOTO , H.; SATO, K. Prevention of dental caries by acousto-optically Q-switched Nd:YAG laser irradiation. *J Dent Res*, v.59, n.2, p. 137, Feb. 1980.
- ²³ YAMAMOTO , H.; SATO, K. Prevention of dental caries by Nd:YAG laser irradiation. *J Dent Res*, v.59, p. 2171-2177, Dec. 1980. Número especial.
- ²⁴ BORGGREVEN, J. M. P.; DUK, J. W.; DRIESSENS, F. C.M. Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental enamel. *Archs Oral Biol*, v.25, p. 74-79, 1980.
- ²⁵ FEATHERSTONE, J. D. B.; FRIED, D.; BITTEN, E. R. Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel. *SPIE*, v.2973, p. 112-116, Bellingham, 1997.
- ²⁶ ZUERLEIN, M. J.; FRIED, D.; FEATHERSTONE, J. D. B. Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel. *Lasers Surg Med*, v.25, n.4, p.335-347, 1999.

-
- ²⁷ FEATHERSTONE, J. D. B.; BARRETT-VESPONE, N. A.; FRIED, D.; KANTOROWITZ, Z.; SEKA, W. CO₂ Laser inhibition of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res*, v.77, n.6, p.1397-1403, Jun. 1998.
- ²⁸ PHAN, N. D.; FRIED, D.; FEATHERSTONE, J. D. B. Laser-induced transformation of carbonated apatite to fluorapatite on bovine enamel. *SPIE*, v.3593, p.233-240, San Jose, 1999.
- ²⁹ ROHANIZADEH, R.; LEGEROS, R. Z.; FAN, D.; JEAN, A.; DACULSI, G. Ultrastructural properties of laser-irradiated and heat-treated dentin. *J Dent Res*, v.78, n.12, p.1829-1835, Dec. 1999.
- ³⁰ ADRIAN, J. C.; BERNIER, J. L.; SPRAGUE, W. G. Laser and dental pulp. *J Am Dent Assoc*, v.83, n.1, p. 113-117. 1971.
- ³¹ LOBENE, R. R.; FINE, S. Interaction of laser radiation with oral hard tissue. *J Prosthet Dent*, v.16, n.3, p. 589-597, May/June 1966.
- ³² KANTOLA, S.; LAINE, E.; TARNA, T. Laser-induced effects on tooth structure. VI. X-ray diffraction study of dental enamel exposed to a CO₂ laser. *Acta Odontol Scand*, v.31, n.6, p.369-370, June 1973.
- ³³ STEWART, L.; POWELL, G. L.; WRIGHT, S. Hydroxyapatite attached by laser: a potential sealant for pits and fissures. *Oper. Dent*, v.10, p.2-5, 1985.
- ³⁴ GOODMAN, B. D.; KAUFMAN, H. W. Effects of an argon laser on the crystalline properties and rate of dissolution in acid of tooth enamel in the presence of sodium fluoride. *J Dent Res*, v.56, n. 10, p.1201-1207, 1977.
- ³⁵ OHO, T.; MORIOKA, T. Ar laser irradiation increases the acid resistance of human enamel. *J. Dental Health*, abstract, v.37, p.283-289, 1987.

-
- ³⁶ POWELL, G. L.; MORTON, T.; WHISENANT, B. K. Argon laser oral safety parameters for teeth. *Laser Surg Med*, v.13, n.5, p.548-552, 1993.
- ³⁷ FLAITZ, C. M.; HICKS, M. J.; WESTERMAN, G. H.; BERG, J. H.; BLANKENAU, R. J.; POWELL, G. L. Argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment in caries-like lesions formation in enamel: an in vitro study. *J Pediatr Dent*, v.17, n.1, p.1, 1995.
- ³⁸ WESTERMAN, G. H.; HICKS, M. J.; FLAITZ, C. M.; POWELL, G. L.; BLANKENAU, R. J. Surface morphology of sound enamel after argon laser irradiation: an in vitro scanning electron microscopic study. *J Pediatr Dent*, v.21, n.1, p.55-59, 1996.
- ³⁹ BLANKENAU, R. J.; POWELL, G. L.; ELLIS, R.W.; WESTERMAN, G. H. In vivo caries-like lesion prevention with Argon laser: pilot study. *J Clin laser Med.&Surg.*, v.17, n.6, p.241-243, 1999.
- ⁴⁰ HAIDER, S. M.; WHITE, G.E.; RICH, A. Combined effects of argon laser irradiation and fluoride treatments in prevention of caries-like lesion formation in enamel: an in vitro study. *J Pediatr Dent*, v.23, n.3, p.247-257, 1999.
- ⁴¹ ANDERSON, J. R.; RANDALL, W. E.; BLANKENAU, R. J.; BEIRAGHI, S.M.; WESTERMAN, G. H. Caries resistance in enamel by laser irradiation and topical fluoride treatment. *J Clin laser Med.&Surg.*, v.18, n.1, p.33-36, 2000.
- ⁴² LIPPAS, M. G.; ARCORIA, C. J.; KHADEMI, J. A. Surface analyses of Ho:YAG, CO₂, CO₂/Nd:YAG & Ar:F lasers. *3th International Congress on laser in Dentistry*, p.139-140 Salt Lake City,USA, Aug 6-8, 1992.
- ⁴³ FEUERSTEIN, O.; PALANKER, D.; FUXBRUNNER, A.; LEWIS, A.; DEUTSCH, D. Effect of the ArF excimer laser on human enamel. *Laser Surg Med*, v.12, n.5, p.471-477, 1992.

-
- ⁴⁴ MOR, C.; STABHOLZ, A.; ROTSTEIN, I. Efficacy of XeCl-308 excimer laser in fusing hydroxyapatite to seal the root apex. *Endod Dent Traumatol*, v.11, n.4, p.169-171, 1995.
- ⁴⁵ FRENTZEN, M.; WINKELSTRATER, C.; van BENTHEM, H.; KOORT, H. J. The effects of pulsed ultraviolet and infra-red lasers on dental enamel. *Eur J Prosthodont Restor Dent*, v.4, n.3, p.99-104, 1996
- ⁴⁶ WILDER-SMITH, P.; LIN, S.; NGUYEN, A.; LIAW, L. H.; ARRASTIA, A. M.; LEE, J. P.; BERNS, M. W. Morphological effects of ArF excimer laser irradiation on enamel and dentin. . *Laser Surg Med*, v.20, n.2, p.142-148, 1997.
- ⁴⁷ WILDER-SMITH, P.; LIN, S.; NGUYEN, A.; LIAW, L. H.; ARRASTIA, A. M.; LEE, J. P.; BERNS, M. W. Morphological effects of ArF excimer laser irradiation on enamel and dentin. . *Laser Surg Med*, v.20, n.2, p.142-148, 1997.
- ⁴⁸ HASHIGUCHI, K.; HASHIMOTO, K. Effedts of KrF excimer laser irradiation on human dental enamel. *Okajimas Folia Anat Jpn*, v.76, n.6, p.321-333, 2000.
- ⁴⁹ NARA, Y.; TAGOMORI, S.; NUMATA, Y.; MORIOKA, T. Effect of erbium:YAG laser irradiation on acid resistance of human tooth enamel. *Surg Med Lasers*, v.3, n.4, p.208-210, 1990.
- ⁵⁰ MORIOKA, T.; TAGOMORY, S.; OHO, T. Acid resitance of laser human enamel with erbium:YAG laser. *J Clin laser Med.&Surg.*, June, p.33-36, 1991.
- ⁵¹ FRIED, D.; FEATHERSTONE, J. D.; SISURY, S. R.; SEKA, W.; WALSH, J. T. The caries inhibitionpotencial of Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation.*SPIE Proceedings of Laser in Dentistry II*, v.2672, p.73-77, 1996.

-
- ⁵² HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; KIMURA, Y.; YAMADA, Y.; MITSHIRO, I.; MATSUMOTO, K. Caries-preventive effects of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J Clin laser Med.&Surg.*, v.18, n.2, p.61-65, 2000.
- ⁵³ HSU, C. A pilot study investigating the potential effects of an Er:YAG laser irradiation on the prevention of enamel demineralization. 7th International Congress on laser in Dentistry, p.21 Brussels,Belgium,Jul.30-Aug2, 2000.
- ⁵⁴ HADLEY, J.; YOUNG, D. A.; EVERSOLE, L.R.; GORNBEIN, J. A. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparaton. *J Am Dent Assoc.* v.131, n. 6, p. 777-785, 2000
- ⁵⁵ LIN, S.; CAPUTO, A. A.; EVERSOLE, L. R.; RIZOIU, I. Topografical characteristics and shear bond strength of tooth surfaces cut with a laser-powered hydrokinetic system. *J Prosthet Dent.* v. 82, n.4, p.451-455, 1999.
- ⁵⁶ EVERSOLE, L. R.; RIZOIU, I.; KIMMEL, A. I. Pulpal response to cavity preparation by an erbium chromium:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc.* v.128, n. 8, p. 1099- 1106, 1997.
- ⁵⁷ APEL, C.; GRÄBER, H. G.; GUTKNECHT, N. Calcium solubility of dental enamel following Er,Cr:YSGG laser irradiation. 7th International Congress on laser in Dentistry, p.2 Brussels,Belgium,Jul.30-Aug2, 2000
- ⁵⁸ ZECELL. D. M.; CECCHINI, S. C. M.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C. P. Temperature changes under Ho:YLF irradiation. *SPIE*, v. 2672, p34-39,1996.
- ⁵⁹ KINNEY, J. H.; HAUPT, D. L.; BALOOCH, M.; WHITE, J. M.; BELL, W. L.; MARSHALL, S. J.; MARSHALL, G. W. The threshold effects of Nd and Ho:YAG laser-induced surface modification on demineralization of dentin surfaces. *J Dent Res*, v.75, n.6, p.1388-1395, Jun.1996

-
- ⁶⁰ CERNAVIN, I. A comparison of the effects of Nd:YAG and Ho:YAG laser irradiation on dentine and enamel. *Aust Dent J*, v.40, n.2, p.79-84,1995.
- ⁶¹ ZECELL, D. M.; BONK, P. A.; SALVADOR, V. L. R.; VIEIRA Jr., N. D.; EDUARDO, C. P. Potential of Ho:YLF and fluoride in prevention of dental caries. *6th International Congress on laser in Dentistry*, p.63-65. Maui,Hawaii, July 24-26, 1998.
- ⁶² OLIVEIRA,M. V.; WETTER, N. U.; ZECELL, D. M.; BOARI, H. G. D.; MARRACHINI, T. M.; EDUARDO, C. P. Morphological modifications in the enamel with dye-assised diode laser (960nm) irradiation. *7th International Congress on laser in Dentistry*, p.37 Brussels,Belgium,Jul.30-Aug2, 2000
- ⁶³ NELSON, D. G. A.; WEFEL, J. S.; JONGEBLOED, W. L.; FEATHERSTONE, J. B. Morphology, histology and crystallografy of human dental enamel trated with pulsed low energy infrared laser irradiation. *Caries Res*. V. 21, p. 411-426, 1987.
- ⁶⁴ WALSH, L. J.; PERHAM , S. J. Enamel fusion using a carbon dioxide laser: a technique for sealing pits and fissures. *Clin Prev Dent*, v.13, n. 3, p.16-20, May. 1991.
- ⁶⁵ FEATHERSTONE, J. B.; ZHANG, S. H.; SHARIATI, M.; MC CORMICK, S. M. Carbon dioxide laser effects on caries-like lesions of dental enamel. In: *Laser in Orthopedic Dental, and Veterinary Medicine*, Stephen N Joffe; Kazuhito Atsumi, edictors, Proc: 1424, p. 145-149, 1991.
- ⁶⁶ KANTOROWITZ, Z.; FEATHERSTONE, J. D. B.; FRIED, D. Augmentation of CO₂ laser inibition of "in vito"caries by fluoride. In: INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH. General Session & Exhibition, 13-17 Mar 1996 Abstract of papers. *J Dent Res*, v. 75, n. 1, p. 25, 1996.

-
- ⁶⁷ TAKAHASHI, K.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. Morphological and atomic analytical changes after CO₂ laser irradiation emitted at 9.3 microns on human dental hard tissues. *J Clin Laser Med Surg*. V.16, n. 3, p. 167-173, Jun. 1998.
- ⁶⁸ KANTOROWITZ, Z.; FEATHERSTONE, J. D. B.; FRIED, D. Caries prevention by CO₂ laser treatment: dependency on the number of pulses used. *J Am Dent Assoc*, v.126, p. 585-591, May. 1998.
- ⁶⁹ HSU, J.; FOX, J. L.; WANG, Z.; POWEL, G. L.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W. I. Combined effects of laser irradiation/solution fluoride ion on enamel demineralization. *J Clin Laser Med Surg*, v.16, n. 2, p. 93-105, Mar. 1998.
- ⁷⁰ KONISHI, N.; FRIED, D.; STANINEC, M.; FEATHERSTONE, J. D. Artificial caries removal and inhibition of artificial secondary caries by pulsed CO₂ laser irradiation. *Am J Dent*, v.12, n.5, p.213-216, Oct. 1999.
- ⁷¹ MORIOKA, T.; TAGOMORY. Combined effects of Nd:YAG laser irradiation and fluoride application on the acid resistance of dental enamel. *3rd International Nd:YAG Laser Symposium*. P. 486-490, 1981
- ⁷² MORIOKA, T.; TAGOMORY, S.; MIYATANI, N. Comparison of the normal pulse and AO Q-sw pulse Nd:YAG on the surface of tooth enamel, *J Jap Soc Laser Dent*, v. 6, n. 3, p. 235, 1987.
- ⁷³ MORIOKA, T.; TAGOMORY. Applicability of Nd:YAG laser on prevention of dental caries. *SPIE*, v. 907, p. 94-97, 1988.
- ⁷⁴ OHO, T. MORIOKA, T. Compositional and structural changes of human laser etched enamel. *J Jap Soc Laser Dent*, v. 9, n. 3, p. 205, 1988.

-
- ⁷⁵OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res*, v.24, n.2, p.86-92, Mar./Apr. 1990.
- ⁷⁶ TAGOMORI, S. & MORIOKA, T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance dental enamel, *Caries Res*, v.23, n.4, p. 225-231, 1989.
- ⁷⁷ TAGOMORI, S. Enhancing effects of Nd:YAG laser on remineralization of incipient dental caries. *SPIE*, v.1066, p.217-220, 1989.
- ⁷⁸ MORIOKA, T.; TAGOMORI, S.; IANAI, Y. An incremental effect of acid resistance and remineralization on incipient caries of enamel with laser irradiation. *J Jpn Soc Laser Dent*, v.1, p.9, 1991.
- ⁷⁹ TWASI, T.; TAGOMORI, S.; BAHAR, A.; MORIOKA, T. Effect of Nd:YAG laser on pits and fissures of enamel. *J Dent Res*, v.71, n.4, p.1039, 1991.
- ⁸⁰ HESS, J. A. Scanning electron microscopic study of laser-induced morphologic changes of a coated enamel surface. *Lasers Surg Med*, v.10, n.5, p. 458-462, 1990.
- ⁸¹ MYERS, T. D.; MYERS, W. D. The use of a laser for debriement of incipient caries. *J Prost Dent*, v.53, n.6, p.776-779, 1990.
- ⁸² EDUARDO, C. P.; OLIVEIRA Jr., N. V.; MIAKI, S. I.; ZECELL, D. M. Comparative study of the shear bond strength of composite resin to dental enamel conditioned with phosphoric acid or Nd:YAG. *Rev Odontol Universidade de São Paulo*, v.11, n.4, p.245-249, 1997.
- ⁸³ WHITE, J. M.; NEEV, J.; GOODIS, H. E.; BERNS, M. W. Surface temperature and thermal penetration depth of Nd:YAG laser applied to enamel and dentin. *SPIE*, v.1643, p. 423-435, 1992.

-
- ⁸⁴ MORIOKA, T. Laser in preventive dentistry – prevention of dental caries. *J Jpn Soc Laser Dent*, v.10, p. 247, 1993.
- ⁸⁵ BAHAR, A.; TAGOMORY, S. The effect of normal pulsed Nd:YAG laser irradiation on pits and fissures in human teeth. *Caries Res*, v.28, p.460-467, 1994.
- ⁸⁶ ZHANG, C.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. The effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation with fluoride on root surface. *J Clin Laser Med & Surg*, v.14, n.6, p.399-4-3, 1996.
- ⁸⁷ NAGAI, N.; FUKUDA, M. ISHIKAWA, K.; MINOURA, S.; YAMADA, Y.; NIIMI, T.; NOGUCHI, T.; IMAD, S.; TAKO, J.; NOGUCHI, T.; TSUBOI, S. NAGAKI, H. New method for the dentine caries using Nd:YAG laser and fluoride combinations. *6th International Congress on laser in Dentistry*, p.70, Maui, Hawaii, July 24-26, 1998.
- ⁸⁸ CECHINI, R. C.; PELINO, J. E.; MELLO, J. B.; CARDOSO, J.B.; SALVADOR, V. I.; EDUARDO, C. P. Acis resistance of enamel treated with Nd:YAG laser associated with fluoride and exposed to a S. Mutans culture media. *6th International Congress on laser in Dentistry*, p.53-57. Maui, Hawaii, July 24-26, 1998.
- ⁸⁹ MYAKI, S. I.; WATANABE, I.; EDUARDO, C. P.; ISSAO, M. Nd:YAG laser effects on the occlusal surface of premolars. *Am J Dent*, v.11, n. 3 p.103-105. Jun. 1998.
- ⁹⁰ PELINO, J. P.; MELLO, J. B.; EDUARDO, C. P.; JORGR, A. O. C. In vitro studies of the Nd:YAG laser effect on dental human enamel: optical and scanning electron microscope analysis. *J Clin Laser Med & Surg*, v.17, n.4, p.171-177, 1999.
- ⁹¹ ZACH, L.; COHEN, G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 19, n. 4, p. 515-530, Apr. 1965.

-
- ⁹² GOODIS, H. E.; WHITE, J. M.; HARLAN, L. Absence of pulpal response from Nd:YAG laser exposure on enamel. *J Dent Res*, v. 71, p. 162, 1992 [Resumo n. 449]. Número especial.
- ⁹³ WHITE, J. M.; GOODIS, H. E.; KUDLER, J.J.; EAKLE, W. S.; NEEV, J.; YESSIK, M. J.; MARSHALL, S. J. Histologic effects on intraoral soft tissue, optical properties of dentin, human pulp response and systematic caries removal using a fiberoptic-delivered pulsed Nd:YAG laser. In. INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, 1994, Singapore. *Proceedings...* Bologna: Monduzi, 1994. p. 121-128.
- ⁹⁴ SLAYTON, R. L.; WEFELL, J. S. Effects of laser irradiation on occlusal surfaces of human molars. *J Dent Res*. v. 70, p. 193, número especial, 1991.
- ⁹⁵ BOARI, H. G. D.; *Avaliação clínica da eficiência do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado na prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças e adolescentes*. Dissertação de Mestrado. IPEN, 2000.
- ⁹⁶ TAGOMORY, S.; IWASE, T. "Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd:YAG laser. *Caries Res*. v. 29, p. 513-520, 1995.
- ⁹⁷ MORIOKA, T.; TAGOMORY, S. TSUTSUNI, H. Effect of laser irradiation on fluoride uptake in enamel – by EPM surface scanning. *J Jap Soc Laser Dent* – Abstracts. 1986.
- ⁹⁸ MIAKI, S. I. *Efeitos da irradiação da luz laser Nd:YAG nos sulcos e fissuras de pré-molares humanos: estudo in vitro, empregando MEV*. Dissertação de Mestrado – USP 1996
- ⁹⁹ PUIG, E. M. *Apostila do curso mestrado profissionalizante lasers em odontologia*. São Paulo, 2000.