



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO *LASER* DE EMISSÃO VERMELHA EM
BAIXA INTENSIDADE NA INCORPORAÇÃO DE FLÚOR NO
ESMALTE. ESTUDO CLÍNICO.**

REGINA KEIKO NAKASONE

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

Orientadora: Profa. Dra. Martha
Simões Ribeiro

Co-orientador: Prof. Dr. Edgar Y. Tanji

SÃO PAULO

2004

Faculdade de Odontologia

Universidade de São Paulo



***Senhor, tu tens sido o nosso refúgio de geração em geração.
Antes que nascessem os montes, ou que tivesses formado a terra e o
mundo, sim, de eternidade em eternidade, tu és Deus.***

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Martha S. Ribeiro, minha orientadora, pela amizade, orientação, presença, incentivo em todos os processos para a execução do trabalho.

Ao Prof. Dr. Edgar Y. Tanji, pela co-orientação.

Ao Dr. Nilson Dias Vieira e professores do MPLO, pelos ensinamentos na área de Física e pela paciência com que ensinaram.

Ao Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo e equipe, pelo exemplo como profissionais e pela ousadia de acreditar em um sonho e realizá-lo.

À Profa. Dra. Marília R. Buzalaf, por ter aberto as portas do Laboratório do Departamento de Ciências Biológicas da FOB, possibilitado a realização do projeto.

À Profa. Dra. Célia Maria M. D. Rodrigues do Departamento de Odontopediatria da FOU SP, pelo estímulo, entusiasmo e sugestões na realização do trabalho.

À Kelly Polido Kaneshiro Olympio, Mestranda em Odontologia em Saúde Coletiva do Departamento de Ortodontia, Odontopediatria e Saúde Coletiva da FOB, pela amizade, disponibilidade com seu tempo, conhecimento e profissionalismo demonstrados na execução experimental.

À Dra. Denise M. Zezell, pela competência e exemplo como profissional.

À minha irmã, Dra. Olímpia M. Nakasone, patologista e responsável técnica pelo Laboratório do Hospital Ana Costa, pelo apoio constante e troca de conhecimento.

À equipe do Laboratório do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru, especialmente **à Thelma e Vanessa**, pelo carinho com que me receberam e pela ajuda fornecida.

À Daniela Fatesi, pela ajuda na correção do trabalho e digitação.

Aos funcionários do LELO, principalmente **à Lili, Haroldo e Cida** pela ajuda fornecida.

À Graça e à Márcia, pelos momentos que compartilhamos durante o mestrado.

Aos meus irmãos, pela compreensão, carinho e apoio.

EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE EMISSÃO VERMELHA EM BAIXA INTENSIDADE NA INCORPORAÇÃO DE FLÚOR NO ESMALTE. ESTUDO CLÍNICO

Regina Keiko Nakasone

RESUMO

O flúor tem sido a medida preventiva de maior impacto frente ao desafio do desenvolvimento da doença cárie. Este estudo *in vivo* avaliou a incorporação do flúor gel fosfato acidulado (FFA) na superfície do esmalte dentário quando associado ao *laser* em baixa intensidade. Foram selecionados 20 incisivos centrais de 10 pacientes, divididos em 4 grupos: *grupo G_C (controle)*, o qual não recebeu tratamento algum; *grupo G_F (flúor)*, o qual recebeu tratamento convencional com aplicação do gel flúor fosfato acidulado 1,23% durante 4 minutos; *grupo G_{LF} (laser + flúor)* tendo sido irradiado com *laser* de diodo em baixa intensidade, com comprimento de onda 660 nm e dose 6 J/cm² com aplicação de APF 1,23% posterior à irradiação; e, finalmente, *grupo G_{FL} (flúor + laser)*, o qual recebeu aplicação prévia de APF 1,23% e posterior irradiação com os mesmos parâmetros do grupo G_{LF}. A metodologia utilizada para a verificação da concentração de flúor foi a biopsia ácida em esmalte. Os resultados mostram um aumento significativo na incorporação de flúor no esmalte para os grupos G_F, G_{LF} e G_{FL} quando comparados ao grupo controle. Embora um aumento de 57% na incorporação do flúor tenha sido observado no grupo G_{LF} em relação ao grupo G_F, não houve diferença estatística entre os grupos tratados. Estes achados sugerem que a radiação *laser* em baixa intensidade utilizada antes do APF pode ser empregada na prática clínica para prevenir cáries.

EFFECTS OF THE LOW-INTENSITY RED LASER RADIATION ON THE FLUORIDE UPTAKE IN ENAMEL. A CLINICAL TRIAL.

Regina Keiko Nakasone

ABSTRACT

Fluoride has been the most important preventive method on development of the caries. This *in vivo* study evaluated the effects of low-intensity red laser radiation on the fluoride uptake in enamel. Ten healthy participants were recruited for this study. The two maxillary central incisors of each volunteer to be biopsied were used and divided into 4 groups: *group G_C (control)*, which was untreated; *group G_F (fluoride)*, which received topical acidulated phosphate fluoride (APF) 1,23% treatment for 4 minutes; *group G_{LF} (laser + fluoride)*, which was irradiated with a low-intensity diode laser ($\lambda = 660$ nm and dose = 6 J/cm²) with APF application after irradiation and *group G_{FL} (fluoride + laser)*, which received APF before irradiation using the same parameters as G_{LF}. The determination of fluoride was performed using a fluoride ion electrode after an acid-etch enamel biopsy. The results show a significant increase of the fluoride uptake in enamel for groups G_F, G_{LF} and G_{FL} when compared to control group. Although a percentage increase of 57% was observed for G_{LF} with respect to G_F, there were no statistical differences among treated groups. These findings suggest that low-intensity laser radiation used before APF could be employed in the clinical practice to prevent dental caries.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	vi
1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1. Cárie Dental	11
3.1.1. Fatores Etiológicos.....	11
3.1.2. Microorganismos Específicos.....	11
3.1.3. Substrato.....	13
3.1.4. Hospedeiro.....	13
3.1.5. Métodos Preventivos.....	14
3.2. Lasers em Prevenção de Cáries	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1. Amostras	23
4.2. Análise	27
4.2.1. Dosagem de Flúor.....	27
4.2.2. Dosagem de Fósforo.....	28
5. RESULTADOS	30
5.1. Análise Inferencial	34
6. DISCUSSÃO	36
7. CONCLUSÃO	40
ANEXO A	41
ANEXO B	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FFA - flúor fosfato acidulado

F – flúor

L - laser

λ - comprimento de onda

Nd - neodímio

YAG - *Yttrium, Aluminium, Garnet* – granada de ítrio e alumínio

LILT - *Low-Intensity Laser Therapy* – terapia laser em baixa intensidade

Ca - cálcio

P - fósforo

HA - hidroxiapatita

ppm - partes por milhão

APF - *acidulated phosphate fluoride* - flúor fosfato acidulado

NaF - fluoreto de sódio

J - joule

mW - miliwatt

cm² - centímetro quadrado

He-Ne - hélio-neônio

s - segundo

mm - milímetro

CPOD - média do número total de dentes cariados(C), perdidos (P) e obturados (O) em um grupo de indivíduos

D - densidade de energia

μ l - microlitro

HCl - ácido clorídrico

M - molar

TISAB - *Total Ionic Strength Adjustor Buffer* - tampão de ajuste de pH, força iônica e descomplexante

NaOH - hidróxido de sódio

μ g - micrograma

g - grama

m - massa

z -profundidade da biópsia

d - densidade

A - área

CaF₂ - fluoreto de cálcio

1. INTRODUÇÃO

A despeito de toda evolução científica, a cárie dental continua presente na vida do homem moderno. O Brasil, particularmente, apresenta ainda índices bastante elevados dessa doença em determinadas regiões.

A cárie é uma doença infecciosa oportunista de caráter multifatorial, fortemente influenciada pelos carboidratos da dieta e pela ação dos componentes salivares, que resulta em uma perda localizada de minerais dos dentes afetados, causada por ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta^{1,2}.

Seu aparecimento está associado à interação de três fatores essenciais: o hospedeiro, representado pelos dentes e pela saliva; a microbiota da região e a dieta consumida. Para que a cárie possa ocorrer, tais fatores devem não somente estar presentes, mas também interagir em condições críticas: um hospedeiro com tecidos suscetíveis (dentes), colonizados por uma microbiota com um potencial cariogênico, consumindo com frequência uma dieta rica em sacarose. Destas condições, podem desenvolver-se placas dominadas por bactérias cariogênicas e, após um certo período de tempo, aparecerem as lesões de cárie¹. A progressão da cárie ou o processo de reversão da mesma, é determinado pelo balanço entre os fatores de proteção e os fatores patológicos³.

Os métodos preventivos atuais podem ser feitos pelo controle da placa dental, pela dieta e pelo uso do flúor. Como os dois primeiros métodos são dependentes da colaboração do paciente, o uso do flúor torna-se imprescindível para que haja êxito no controle da cárie dental na Odontologia preventiva⁴.

A Odontologia moderna se preocupa com a máxima preservação do elemento dental. A experiência clínica e uma enorme quantidade de pesquisas odontológicas têm mostrado que é necessário ter estratégias de prevenção de cárie, visando aumentar a resistência do esmalte dental à dissolução ácida por meio da introdução de métodos e materiais profissionais, tais como a própolis^{5,6}, fluoretação do açúcar⁷ e agora, também, a utilização da tecnologia *laser*.

Desde 1960, quando Maiman desenvolveu o primeiro *laser*, essa luz com características especiais como a monocromaticidade, colimação e coerência,

vem sendo utilizada nas várias especialidades odontológicas. Os *lasers* em alta intensidade são cada vez mais utilizados em cirurgia, enquanto os *lasers* em baixa intensidade são difundidos em tratamentos terapêuticos. Já em 1965, Sognaes e Stern demonstraram que a exposição do dente a um *laser* de rubi ($\lambda = 693 \text{ nm}$) aumenta a resistência do esmalte ao ataque ácido⁸.

Atualmente, o *laser* de Nd:YAG ($\lambda = 1064 \text{ nm}$) é bastante utilizado na Odontologia como método preventivo à cárie dental⁹. Pesquisas envolvendo este comprimento de onda mostraram marcante redução da suscetibilidade da dissolução ácida do esmalte dental^{10, 11}. No entanto, apesar deste efeito benéfico, efeitos morfológicos indesejáveis (fissuras, depressões e fendas) devido à alta temperatura são comuns no esmalte exposto, se o *laser* não for utilizado da maneira adequada.

Em contraste, a terapia com *laser* em baixa intensidade (LILT - *Low-Intensity Laser Therapy*) tem a vantagem de não provocar danos térmicos aos tecidos. Enquanto a maioria das aplicações do *laser* em baixa intensidade, na Odontologia, é direcionada aos tecidos moles, nos anos recentes tem aumentado o interesse em relação a sua aplicação em tecidos duros.

Em consequência da desigualdade social e, portanto, do grande número de pessoas com baixa renda, o Brasil é ainda um país que reflete altos índices da doença cárie. Medidas preventivas que atuassem diretamente na estrutura dentária seriam bem vindas, pois os atuais métodos adotados dependem da reeducação e colaboração dos pacientes.

Desse modo, este estudo propõe a utilização do *laser* em baixa intensidade, o qual não é invasivo e tem baixo custo, em associação com compostos fluoretados, como coadjuvante na prevenção da doença cárie.

2. OBJETIVOS

- Investigar os efeitos do *laser* em baixa intensidade, em associação com flúor fosfato acidulado (APF), na incorporação dos íons de flúor no esmalte;
- Comparar a incorporação de flúor nos dentes irradiados com aqueles que receberam somente o flúor;
- Comparar a incorporação de flúor com o controle sem tratamento.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Cárie Dental

3.1.1. Fatores Etiológicos

A cárie é presentemente reconhecida como uma doença infecto-contagiosa, que resulta de uma perda localizada de minerais dos dentes afetados, causada por ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta⁴.

A cárie parece estar associada ao homem desde o período Paleolítico, tendo sua incidência aumentada no período Neolítico.

No homem antigo, as lesões de cárie localizavam-se mais freqüentemente na junção amelocementária. Já no homem moderno, sua localização mais comum é nos sulcos e fissuras nas faces proximais dos dentes⁹.

Seu caráter multifatorial e seu aparecimento são dependentes da interação de três fatores essenciais: o hospedeiro, representado pelos dentes e saliva, a microbiota e a dieta consumida. Para que a cárie ocorra, tais fatores devem não apenas estar presentes, mas também interagir em condições críticas, a saber: um hospedeiro com tecidos suscetíveis e colonizado por uma microbiota com potencial cariogênico, consumindo dieta rica em sacarose⁴.

É evidente que a mera existência dos três fatores, operando em conjunto, não resulta em perda mineral instantânea e portanto, um outro fator, o tempo, é adicionado para enfatizar o período que a lesão de cárie leva para se desenvolver. Os fatores de possível importância e seu inter-relacionamento para o aparecimento e progressão da doença são bastante complexos¹².

3.1.2. Microorganismos Específicos

No final do século XIX, Miller resumiu a informação disponível sobre bactérias e ácidos, relacionando-os à etiologia da cárie dental, denominando a

teoria químico-parasitária. Os anos que se seguiram testemunharam a verificação do papel da produção de ácidos, pelas bactérias, na etiologia da cárie¹³.

Alguns microorganismos são mais importantes que outros na patogenia da cárie dentária, como o *Streptococcus mutans*, o *Lactobacillus sp* e algumas espécies de *Actinomyces*. Os *mutans*, em geral, estão associados à fase inicial da cárie, os *Lactobacillus* com o desenvolvimento posterior da lesão e os *Actinomyces* com a cárie de raiz. A figura 3.1 mostra que não é o número de microorganismos, mas as funções de certas bactérias que determinam se a desmineralização ocorrerá ou não. Deste modo, para avaliar o risco de cárie, o índice de placa de um paciente tem valor limitado. Em lugar dele, o que deverá ser observado é a quantidade de microorganismos cariogênicos, tais como *Lactobacillus* e *S. mutans*, que este paciente apresenta¹⁴.

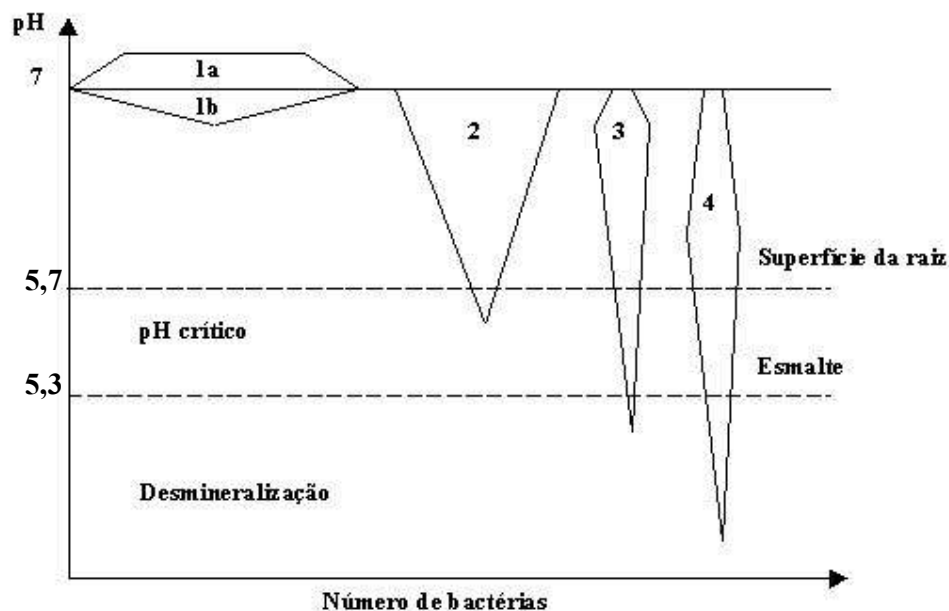


Figura 3.1: (1a) bactérias que produzem álcalis; (1b) bactérias que produzem pequenas quantidades de ácidos; (2) bactérias que não atingem o nível crítico; (3) *S. mutans* e (4) *Lactobacillus*. Modificado de Krasse¹⁴.

A figura acima mostra a produção de ácido dos microorganismos da placa. Algumas bactérias podem produzir álcalis (1a), outras somente uma pequena quantidade de ácidos (1b). Outros microorganismos (2) constituem a

grande maioria do número total de bactérias da placa e embora produzam grandes quantidades de ácidos, nunca atingem o chamado nível crítico. O pH crítico é o nível no qual a superfície dentária é dissolvida em grau considerável, cerca de 5,3 e 5,7. Alguns microorganismos, tais como o *S. mutans* e o *Lactobacillus* (3 e 4) mostram ótimo crescimento com pico de pH abaixo do nível crítico.

3.1.3. Substrato

Dietas ricas em sacarose são altamente cariogênicas, pois são o principal substrato utilizado pelo *S. mutans* na formação de ácido e subsequente queda de pH no ambiente da placa dental¹⁵.

O estudo sueco de Vipeholm demonstrou que no desenvolvimento da cárie o mais importante é a frequência ao invés da quantidade total de açúcar ingerido. Além disso, também são importantes a concentração e a aderência dos subprodutos do açúcar. Estes fatores influenciam o tempo de eliminação do açúcar da boca após a alimentação¹⁴.

A sacarose não é necessária para a inserção inicial do *S. mutans* na superfície dentária. Entretanto, para o desenvolvimento posterior de colônias microbianas, a sacarose tem um papel importante. Somente com sacarose a colônia desse microorganismo é formada com forte aderência à superfície dentária¹⁴.

3.1.4. Hospedeiro

Dois fatores importantes do hospedeiro que determinam a resistência à cárie dentária são a qualidade e o estado do esmalte¹⁴.

Fatores nutricionais ou dietéticos são especialmente importantes, principalmente durante a odontogênese, influenciando adesivamente na maior ou menor resistência das estruturas dentárias à cárie.

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 capacidade tampão.

Outro aspecto determinante na formação de lesões de cárie, relativo à 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 boca¹⁴.

Dessa forma, a modificação nas condições da microflora, da dieta e do hospedeiro - três fatores principais para o surgimento da cárie - pode ser tanto isolada, como concomitante, dependendo da gravidade das condições encontradas.

3.1.5. Métodos Preventivos

A microbiota cariogênica e a dieta são considerados os fatores primários para o desenvolvimento da cárie e os fatores secundários são a saliva, a exposição ao flúor, a higiene oral¹⁶.

A prevenção de cáries utiliza como estratégias:

- aumentar a resistência do esmalte aos ácidos produzidos pelos microorganismos existentes na placa bacteriana;
- diminuir o poder patogênico da placa, pela diminuição da placa ou pela retirada de microorganismos existentes na mesma;
- controlar a ingestão de substratos cariogênicos, no caso, a sacarose.

A dieta exerce grande influência para manter os tecidos bucais em ótimo estado de resistência à carie já desenvolvida.

As variáveis dietéticas mais importantes na cárie dentária pós-desenvolvimento são a biodisponibilidade de carboidratos refinados, a forma e a frequência com que são fornecidos aos microorganismos da placa. Esses fatores são mais importantes, inclusive, que o total de carboidratos consumidos¹⁷.

Dentre os procedimentos mecânicos do tratamento preventivo, os pacientes são instruídos a escovar os dentes e a utilizar fio dental escrupulosamente, observando-se um esquema de aplicação diária para que

ocorra diminuição do poder patogênico da placa ou mínima concentração de bactérias nas superfícies dentárias. O conceito de remoção da placa bacteriana pela escovação dentária é bem conhecido pelo público por meio da propaganda de produtos comerciais de higiene oral¹³. A limpeza também pode ser realizada pelo dentista uma a duas vezes por ano, com aplicação tópica do flúor, dependendo da suscetibilidade do paciente à cárie.

A aplicação de selantes também é utilizada nas fissuras das superfícies dentárias por serem estas áreas mais suscetíveis à cárie¹⁸. Muitos profissionais demonstram a preocupação quanto à possibilidade de que cáries subclínicas pudessem ficar ocluídas pelo selante. No entanto, estudos clínicos indicam que cáries não progridem sob a superfície dos dentes selados e as bactérias, nessas circunstâncias, podem morrer e até haver uma remineralização das cáries sob selantes intactos¹³. Entretanto, há necessidade de atenção cuidadosa quanto à técnica utilizada, como a manutenção do selante intacto para que ocorra o sucesso da prevenção.

Nos casos em que a prevalência de cárie é acentuada, pode-se fazer uso de agentes antimicrobianos, desde que sejam observados os seguintes princípios de tratamento de qualquer doença infecciosa:

- tratar somente pessoas altamente infectadas;
- aplicar a substância antibacteriana no local da infecção por um prazo de tempo suficiente para eliminar ou reduzir substancialmente o número de agressões;
- monitorar a eficiência do processo através de testes bacteriológicos.

Os agentes quimioterápicos mais utilizados nesses casos são: iodo, clorexidina, furadoxil, fluoreto de estanho e outros íons metálicos¹⁹.

Atualmente, a medida de maior impacto para o controle do desenvolvimento da cárie é a utilização do flúor. Embora seu uso isolado não impeça o desenvolvimento da doença – o flúor apenas reduz a rápida progressão da cárie - o declínio mundial da manifestação desta patologia tem sido atribuído ao uso abrangente de uma ou mais formas de utilização de flúor⁸.

Tendo-se em vista que o controle da dieta e os componentes mecânicos, como escovação e uso de fio dental, dependem da motivação e

colaboração do paciente, o uso do flúor torna-se imprescindível como meio complementar para o êxito no controle da cárie dental.

O efeito do flúor na redução de lesões cariosas vem sendo utilizado desde 1940, embora tenha sido difícil estabelecer um consenso sobre o mecanismo explicativo do efeito preventivo¹².

O dente apresenta em relação ao meio bucal, não um comportamento estático, mas altamente dinâmico. Em um pH maior que 5,5, a composição da saliva em cálcio (Ca) e fosfato (P) supera (supersaturante) o produto de solubilidade da hidroxiapatita (HA). Logo, a tendência físico-química é o dente ganhar Ca e P do meio bucal. Deste modo, o pH 5,5 é chamado crítico, pois até esse limite o produto iônico das concentrações de Ca e P, na maioria dos indivíduos, é maior do que a dos íons em equilíbrio de uma suspensão de HA. Esta mesma condição ocorre na presença da placa dental. Quando se atinge um pH menor que 5,5, a composição da saliva em Ca e P torna-se inferior (subsaturante) em relação ao produto de solubilidade da HA. Deste modo, a tendência físico-química é o esmalte perder Ca e P para o meio bucal tentando atingir o novo estado de equilíbrio em função do pH atingido. Isto ocorre na placa dental toda vez que se ingere açúcar. Atingido o pH inferior a 5,5, a consequência será a dissolução do esmalte. Simulando o processo de cárie dental, a simples presença de flúor nas soluções ácidas subsaturantes de Ca e P reduz a solubilidade do esmalte. Se o pH for 5 basta 0,05 ppmF, se 4,5 será necessário 5,0 ppmF¹⁹.

Durante algum tempo, a utilização dos fluoretos sistêmicos foi supervalorizada, mas, atualmente, observa-se que após a ingestão eles são metabolizados e voltam na forma de secreção salivar. Além disso, durante o metabolismo, os agentes fluoretados sistêmicos têm perda de potencial e são eliminados pela urina em algumas horas¹⁷.

Isto mostra a dificuldade em manter o flúor, constantemente, na cavidade bucal por métodos sistêmicos, devendo ser utilizado de modo freqüente. Assim, quando é paralisada a fluoretação da água, há perda do efeito cariostático do flúor, a qual deve ser atribuída à não manutenção da placa dental e à consequente não manutenção dos processos de mineralização e remineralização¹⁹.

Assim, conclui-se que o flúor dinamicamente importante é aquele presente constantemente na cavidade bucal, participando do processo de cárie e agindo diretamente na mineralização e remineralização.

Deste modo, o flúor age melhor reduzindo a solubilidade do esmalte, por sua simples ação dinâmica no meio líquido (fluido da placa e esmalte) ao nível de lesão de cárie, do que pela sua posição estática incorporado em concentração não significativa no esmalte¹⁹.

O mecanismo de ação e o período de atuação dos agentes fluoretados podem ser divididos em duas categorias: sistêmicos e tópicos. Os agentes fluoretados sistêmicos afetam as propriedades do mineral do esmalte durante a amelogênese. Os agentes fluoretados tópicos atuam por intermédio de reações que ocorrem na interface esmalte-saliva ou esmalte-placa, aumentando a estabilidade do mineral do esmalte. Entretanto, os agentes ingeridos também têm uma ação tópica no momento em que passam pela cavidade bucal²⁰.

Vários métodos de aplicação tópica de flúor vêm sendo desenvolvidos. Cada um deles apresenta vantagens e desvantagens, bem como diferentes porcentagens de redução de cárie.

Moreno apresentou a seguinte subdivisão para os agentes fluoretados tópicos²⁰:

- agentes de alta concentração de flúor: são aplicados pelo cirurgião dentista. Sua concentração, geralmente, está na faixa de 12000 ppmF (soluções de APF e NaF), mas no mercado há produtos com concentrações entre 4000 e 20000 ppmF. Estes produtos estão na forma de soluções, géis e pastas profiláticas. A aplicação tópica destes agentes é feita, geralmente, a cada 6 meses e tem-se relatado uma redução de cáries de 10 a 50%;
- agentes de baixa concentração de flúor: esta categoria compreende os dentifrícios e enxaguatórios bucais (200 a 500 ppmF). As pastas dentais para adultos apresentam uma concentração de 1000 a 1500 ppmF. A eficácia destes dentifrícios e enxaguatórios está bem documentada e tem-se relatado que a redução da concentração de flúor diminui a sua eficácia.

A manutenção do flúor na cavidade bucal, por meio de métodos tópicos, se faz de maneira análoga aos sistêmicos e, após certo tempo, o flúor solúvel é eliminado da cavidade bucal¹⁹.

Nas soluções e géis presentes no mercado atual, a concentração de F é considerada elevada, levando a formação de pequena quantidade de fluorapatita e uma concentração maior de CaF_2 , que é insolúvel e fica retido no esmalte²¹.

O efeito cariostático da aplicação tópica de flúor é devido principalmente à formação de CaF_2 precipitado na superfície dental²².

Através da lenta dissolução e, conseqüentemente, da prolongada retenção, presume-se que o CaF_2 sólido atue como reservatório a partir onde é liberado para o ambiente líquido dos dentes. Quando todo o CaF_2 é dissolvido seu efeito cariostático é perdido e, de forma de manter o depósito de fluoreto de cálcio, as aplicações tópicas de flúor devem ser repetidas¹².

A quantidade de CaF_2 formada é função direta (\uparrow) da concentração de F no método e inversamente ao pH (\downarrow) do mesmo¹⁹.

As buscas pela otimização da aplicação de flúor como método preventivo e por maneiras pelas quais sua substantividade possa ser aumentada, continuam presentes nas pesquisas atuais.

Mudanças associadas ao desenvolvimento tecnológico e científico trazem a utilização do *laser* como auxiliar em procedimentos preventivos que visam a promoção da saúde bucal. Não seria utópico visionar a utilização do *laser* como coadjuvante na maioria dos procedimentos, objetivando o conforto e bem estar dos pacientes e a qualidade nos atendimentos odontológicos.

3.2. Lasers em Prevenção de Cáries

Os primeiros trabalhos em Odontologia utilizando o *laser* na prevenção de cáries remontam de 1964, quando Stern e Soganes²³ observaram a ácido resistência adquirida pelo esmalte, *in vitro*, após irradiação com *laser* de Rubi. Mais tarde, estes mesmos autores constataram maior resistência do esmalte ao ácido após irradiação com o *laser* de CO_2 ²⁴. A partir desses estudos vários *lasers* passaram a ser estudados.

Yamamoto e Oya²⁵ utilizaram o *laser* de Nd:YAG em amostras *in vitro* de dentes humanos, os quais tiveram placa bacteriana induzida por 3 dias. Após esse período, observaram que os dentes irradiados com densidade de energia de

20 J/cm² não encontraram desmineralização. No entanto, os dentes controle apresentaram desmineralização subsuperficial.

Em outro estudo, Tagomori e Morioka²⁶ observaram que a aplicação do APF após a irradiação *laser* provocou aumento na resistência ácida do esmalte, enquanto a aplicação antes da irradiação mostrou um efeito menor, similar ao tratamento apenas com APF ou à irradiação *laser* utilizada isoladamente. Foi observado um aumento acentuado na captação de íons flúor na superfície do esmalte.

Os *lasers* em alta intensidade mais utilizados para aumentar a resistência do esmalte, tendo em vista a prevenção de cáries, são o Nd:YAG (pulsado e contínuo), o argônio, o hólmio, o CO₂ e mais recentemente, o érbio e o diodo.

Na busca de alternativas para a prevenção de cárie dental têm surgido publicações com a utilização dos *lasers* em baixa intensidade. Seus efeitos frente ao tecido biológico diferem dos *lasers* em alta intensidade atualmente utilizados na Odontologia, os quais provocam mudanças estruturais e alterações térmicas.

Um dos pioneiros na pesquisa do *laser* em baixa intensidade nas áreas biomédicas foi Mester, que em 1966 publicou o primeiro trabalho científico referente aos efeitos não térmicos da luz *laser* sobre a pele de ratos²⁷.

A terapia utilizando *lasers* em baixa intensidade baseia-se nos efeitos fotofísicos, fotoquímicos e/ ou fotobiológicos, atuantes no tecido ou célula alvo.

Apesar da vasta literatura, as informações sobre os efeitos dos *lasers* em baixa intensidade não são conclusivas, com pouco embasamento científico, existindo algumas poucas teorias para explicá-los²⁸. Esses *lasers* são utilizados com propósitos terapêuticos, mostrando bons resultados, principalmente, em cicatrização de feridas e alívio de dor.

Publicações dos últimos dez anos relatam os efeitos do *laser* em baixa intensidade frente ao tecido duro dental na prevenção da doença cárie, baseando-se em observações clínicas. Resultados positivos são alcançados, principalmente em pacientes com suscetibilidade à doença.

Sulajiev *et al.*^{29, 30} conduziram um estudo sobre o grau de solubilidade do esmalte dentário nos processos de mineralização e desmineralização do esmalte dental após irradiação com *laser* de He-Ne. Foram selecionadas 66

crianças, divididas em três grupos, de acordo com a suscetibilidade à cárie: crianças sem nenhuma lesão ou saudáveis; crianças com manchas brancas ou lesão inicial; e crianças que apresentavam cárie em quantidade. Os dentes foram irradiados por 90 segundos, com intensidade de 40 mW/cm^2 durante 7 dias. As avaliações foram realizadas antes e depois de cada irradiação, na primeira, terceira, quinta e sétima sessão, por intermédio de biopsia ácida em esmalte. Nas crianças saudáveis houve uma redução na solubilidade do esmalte. Naquelas que apresentavam manchas brancas foi também observada diminuição na solubilidade, sendo que o processo de resistência do esmalte à solução desmineralizadora ocorreu mais intensamente do que nas crianças saudáveis. No grupo restante também houve redução na solubilidade, entretanto o processo de resistência transcorreu de forma mais lenta do que no grupo anterior. Segundo os autores, os resultados da análise permitem recomendar a utilização do *laser* de He-Ne em prevenção de cárie para o tratamento nas fases iniciais da doença e, aparentemente, a irradiação com os parâmetros utilizados leva a uma alteração nos processos de troca mineral da superfície do esmalte.

Andreu *et al.*³¹ verificaram a possível ocorrência de um efeito fotoquímico depois da irradiação com *laser* em baixa intensidade, o qual estimularia as trocas minerais no esmalte.

Mukashev³², em um estudo com 455 crianças que apresentavam suscetibilidade à cárie, observou que a combinação de medidas profiláticas com a irradiação do *laser* de He-Ne permitiu diminuir a intensidade do processo cariioso, contribuindo para o desaparecimento de áreas de desmineralização, melhorando as condições de saúde bucal. Nesse estudo, dois grupos foram analisados. No primeiro, apenas medidas profiláticas e preventivas foram utilizadas. No outro grupo foram utilizados os mesmos tratamentos preventivos e também a associação com o *laser* de He-Ne. O tempo de exposição à radiação foi 60 s por dente, intensidade de 26 mW/cm^2 e diâmetro de feixe de 10 mm. A duração e frequência do tratamento com o *laser* variaram segundo o grau de atividade e prognóstico do desenvolvimento do processo cariioso. A avaliação foi realizada em percentual, com relação à redução de cárie em 12, 24 e 36 meses. A associação de compostos fluoretados com a irradiação obteve o resultado mais positivo, com 70% de redução de cárie após 36 meses. O melhor resultado do

grupo em que apenas medidas profiláticas foram utilizadas, foi de 52,2% de redução de cárie. Foi observado, também, que no grupo controle - apenas irradiado com o *laser* - ocorreu redução de cárie de 31,3% após 36 meses. No grupo que não recebeu tratamento algum, não ocorreu redução de cárie após esse período.

Kunin *et al.*³³ conduziram um estudo com 580 crianças, entre 3 e 6 anos, que apresentavam suscetibilidade à cárie com índice CPOD \geq 2. Três grupos foram criados, conforme os tratamentos: apenas medidas profiláticas (grupo controle); aplicação de verniz fluoretado, 2 vezes ao ano (grupo dois); e aplicação de verniz fluoretado, com posterior irradiação *laser* de He-Ne, 2 vezes ao ano (grupo três). O *laser* foi utilizado com intensidades entre 80 e 100 mW/cm², com feixes de 4 a 5 mm de diâmetro, durante 60 segundos, por dente. A avaliação foi realizada após 4 anos. Houve redução de cárie de 98% no grupo da associação do verniz fluoretado com o *laser*. No grupo onde foi utilizada apenas a aplicação do verniz fluoretado observou-se uma redução de cárie de 71%. Segundo os autores, nas condições utilizadas, a aplicação prévia do verniz fluoretado e a irradiação com *laser* de He-Ne contribui para a diminuição dos focos de desmineralização do esmalte e sua estabilização, resultando em dentes mais resistentes à doença cárie.

Novamente, Kunin *et al.*³⁴ realizaram dois estudos com adultos suscetíveis à carie. O primeiro estudo, com 120 adultos, foi dividido em 3 grupos: verniz fluoretado todos os dias, durante 5 dias (grupo 1); associação do verniz fluoretado com *laser* infravermelho (grupo 2); e associação do verniz fluoretado com *laser* de He-Ne (grupo 3). Foram verificados a intensidade da atividade cariogênica, a condição de higiene bucal, a presença de camada dental cariogênica, o pH da saliva bucal e a dosagem de Ca no esmalte dental por meio de espectrofotometria. No outro estudo, foram selecionados 184 adultos que apresentavam grau leve, médio e alto de desmineralização. Foram avaliados quanto à qualidade da higiene bucal, a intensidade da atividade cariogênica, dosagem de Ca e P e medida eletrométrica. Observaram que a combinação de compostos remineralizadores, vernizes fluoretados e terapia *laser* é altamente eficiente na prevenção e tratamento de lesão de mancha branca, observando que os períodos de tratamento diminuem para esse tipo de lesão quando do uso

dessa associação. Não observaram diferença na eficiência terapêutica em relação ao esmalte dental ao utilizar o *laser* de HeNe ou o *laser* infravermelho em baixa intensidade, nos dois estudos. A avaliação foi realizada após 1 ano.

Andreu *et al.*³¹ realizaram um estudo clínico em 112 crianças com idade entre 6 e 7 anos, divididas segundo a susceptibilidade à cárie. No 1º grupo estavam as crianças não susceptíveis à cárie, com CPOD= 0; no 2º grupo estavam as crianças com índice CPOD= 1 ou mais. Os grupos foram subdivididos em A (apenas aplicação de flúor) e B (associação de flúor com posterior irradiação com *laser* de He-Ne). O *laser* utilizado tinha feixe com 1 mm de diâmetro e dose $D= 6 \text{ J/cm}^2$. A avaliação dos resultados foi obtida após 2 anos. Foi sugerido que existe uma atuação mais efetiva da luz *laser* em associação com os compostos fluoretados, como já observado por alguns pesquisadores.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Dez voluntários de 16 a 25 anos de idade com bom estado de saúde bucal e geral, residentes na cidade de Bauru, participaram do estudo. Todos os voluntários e pais dos voluntários, no caso de menor idade, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

Eles foram submetidos à prévia anamnese por meio de questionário apropriado, cujos dados foram anotados em uma Ficha de Avaliação Clínica (APÊNDICE B).

Este trabalho foi desenvolvido em colaboração com a Profa. Marília Afonso Rabelo Buzalaf, da Disciplina de Bioquímica do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru.

4.1. Amostras

Foram considerados os seguintes parâmetros para escolha das amostras a serem estudadas: incisivos centrais superiores totalmente erupcionados, superfície dentária íntegra, ausência de cárie, descalcificações e situações que sugerissem desmineralização do dente. A duração do procedimento foi 30 minutos, no máximo, por voluntário e em sessão única, sendo que no momento da irradiação foram utilizados óculos de proteção, tanto para os operadores como para os pacientes. Ao todo, 20 incisivos foram analisados, ou seja, dois incisivos por paciente, o central superior direito e o central superior esquerdo, sendo que no incisivo superior direito foram realizadas duas biópsias (Figura 4.1)^{21, 36}.

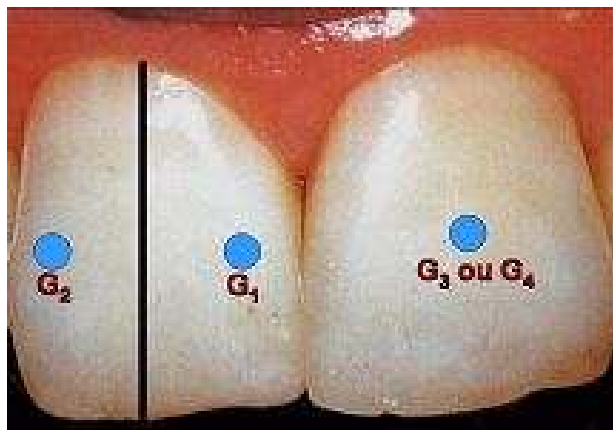


Figura 4.1: Divisão dos grupos estudados. G₁: grupo controle; G₂: grupo flúor; G₃: grupo laser + flúor; G₄: grupo flúor + laser.

As amostras foram divididas em quatro grupos, conforme a descrição abaixo:

- **Grupo G_C (controle)**

O grupo G_C não recebeu tratamento algum. A biópsia foi realizada no terço médio mesial do elemento 11. A profilaxia prévia foi executada nos incisivos centrais com pedra pomes e água. A seguir, os incisivos centrais foram isolados e secos com algodão. Um adesivo da 3M com orifício de diâmetro de 0,9 mm foi fixado no local selecionado, o terço médio mesial do elemento 11 (Figura 4.2).



Figura 4.2: Adesivo com perfuração de 0,9 mm.

Com uma pipeta, 5 μl de HCl (0,5 M) foi dispensado sobre o orifício do adesivo durante 5 segundos. Com outra pipeta de volume maior foi coletada a gota de HCl que havia sido dispensada sobre o orifício do adesivo, a qual foi depositada sobre uma placa de Petri contendo 50 μl de TISAB II (*Total Ionic Strength Adjustor Buffer*), uma solução tampão para ajuste de pH, força iônica e descomplexante (Figura 4.3).



Figura 4.3: Dispensando a gota na placa de Petri.

A seguir, foram realizadas duas lavagens *in situ* (no local da biópsia e no orifício do adesivo) com 5 μl de NaOH (0,25 M), por 5 segundos cada lavagem, sendo os dois conteúdos da lavagem adicionados no volume contido na placa de Petri. Essas lavagens foram realizadas para neutralizar o efeito do ácido utilizado para a biópsia. O conteúdo da biópsia foi levado para análise do flúor e fósforo (Figura 4.4).



Figura 4.4: Procedimento da biópsia.

- **Grupo G_F (flúor)**

O grupo G_F recebeu tratamento convencional com aplicação do gel flúor fosfato acidulado a 1,23%, durante 4 minutos. Foi aplicada uma camada de, aproximadamente, 2 mm de gel APF a 1,23% com cotonete, com os incisivos centrais previamente isolados com roletes de algodão. Depois de quatro minutos, o gel foi removido e a superfície dentária limpa com rolete de algodão. A biópsia foi realizada no terço médio distal do elemento 11, utilizando-se o mesmo procedimento e análise do grupo G_C.

- **Grupo G_{LF} (laser + flúor)**

O grupo G_{LF} foi irradiado com *laser* de diodo em baixa intensidade, modelo Bio Wave LLT (Kondortech, Brasil), com comprimento de onda $\lambda = 660$ nm e potência de 30 mW (Figura 4.5). A densidade de energia utilizada³¹ foi 6 J/cm². Este grupo recebeu aplicação do APF 1,23% depois da irradiação, sendo aguardados 4 minutos para que se realizasse os mesmos procedimentos de biópsia e análise dos grupos anteriores. A biópsia foi realizada no terço médio do elemento 21.



Figura 4.5: Laser Bio Wave LLT.

- **Grupo G_{FL} (flúor + laser)**

O grupo G_{FL} recebeu aplicação prévia do APF a 1,23% e foi irradiado com os mesmos parâmetros do grupo G_{LF}, posteriormente à aplicação do APF. Após 4 minutos foram realizados os mesmos procedimentos de biópsia e análise dos grupos anteriores. A biópsia foi realizada no terço médio do elemento 21, semelhante ao G_{LF}.

4.2. Análise

A verificação da incorporação do flúor no esmalte dental foi determinada por biópsia ácida em esmalte, método preconizado por diversos autores em trabalhos de prevenção de cárie dental^{21, 35, 36}.

4.2.1. Dosagem de Flúor

A concentração de flúor nas amostras foi obtida utilizando-se um analisador de íons SA-720 Procyon (Figura 4.6).



Figura 4.6: Leitura com analisador de íons.

Também foi utilizado um eletrodo específico para flúor (Figura 4.7), modelo 9409 (*Órion Research Incorporated Laboratory Products Group, USA*) e um minieletrodo de referência calumelano. Os equipamentos foram previamente

calibrados com soluções padrão contendo 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,4; 12,8 e 25,6 ppm de flúor, preparados com 0,5 M de HCl e 0,5 M de NaOH e TISAB II.



Figura 4.7: Leitura com eletrodo de flúor.

4.2.2. Dosagem de Fósforo

Após a leitura no eletrodo, o conteúdo foi depositado em 2,2 ml de água deionizada para a posterior leitura do fósforo (Figura 4.8). Dosagens de fósforo foram realizadas com o objetivo de determinar a quantidade de esmalte removida de cada uma das amostras, as quais foram analisadas por espectrofotometria no equipamento DU-65 (Beckman). A metodologia empregada foi baseada no trabalho de Fiske e Subbarow³⁷.



Figura 4.8: Dispensando a amostra para a dosagem de fósforo.

Assim, considerando que no esmalte há 17,5% de fósforo, a massa, em grama (g), de esmalte removido pôde ser determinada^{38,39}. Deste modo, conhecendo-se a quantidade de flúor, em micrograma de flúor ($\mu\text{g F}$), e a massa do esmalte, em g, foi calculada a concentração de flúor da camada de esmalte removida, em partes por milhão ($ppm = \frac{\mu\text{gF}}{g}$).

A massa do esmalte coletado foi calculada baseando-se no conhecimento de que o conteúdo de fósforo no esmalte é 17,5%. A profundidade da biópsia foi calculada baseando-se no conhecimento de que a densidade do esmalte⁴⁰ é 2,95 g/cm³ e que a geometria da área coletada é um círculo. As equações usadas foram:

$$m_{\text{esmalte}} = \frac{m_{\text{fósforo}}}{0,175}$$

$$z = \frac{m_{\text{esmalte}}}{d \cdot A}$$

onde:

m_{esmalte} é a massa do esmalte coletado;

$m_{\text{fósforo}}$ é a massa de fósforo;

0,175 é o conteúdo de fósforo no esmalte;

z é a profundidade da biópsia;

d é a densidade do esmalte;

A é a área coletada.

Desta forma, foi calculada a concentração de flúor em partes por milhão (ppm). Os dados foram submetidos à análise estatística para comparação dos resultados entre os grupos.

5. RESULTADOS

A tabela 5.1 apresenta as médias, com os respectivos desvios padrão, dos grupos analisados. Nota-se grande diferença entre os grupos controle e os grupos APF e tratamento (L+F e F+L), mas estes dois últimos não são muito diferentes entre si, apesar do desvio padrão ser maior para o grupo L+F. A variabilidade nos grupos foi bem grande, principalmente nos grupos tratamento.

Tabela 5.1: Médias e desvios padrão (entre parentesis) para a quantidade de flúor incorporada na superfície do esmalte.

Grupos	L+F	F+L
Controle	971,4 (934,4)	1.829,7 (1.472,3)
APF	4.833,1 (1.106,0)	6.489,1 (2.865,5)
Tratamento	7591,8 (6604,3)	6.854,5 (3.581,6)

A Figura 5.1 mostram a incorporação de íons de flúor no esmalte dental para os grupos controle, flúor (APF) e *laser* + flúor. Observa-se que nos grupos flúor e *laser* + flúor, a incorporação do flúor foi significativamente maior quando comparada ao controle. Entre os grupos flúor e *laser* + flúor, não foram observadas diferenças estatísticas significantes.

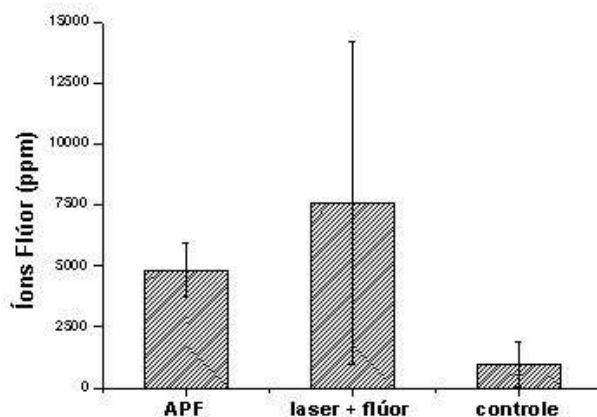


Figura 5.1: Média da incorporação de flúor no esmalte, em partes por milhão (ppm), \pm desvio padrão.

A Figura 5.2 mostra a incorporação de íons de flúor no esmalte dental para os grupos controle, flúor e flúor + *laser*. Observa-se que nos grupos flúor e flúor + *laser*, a incorporação do flúor foi significativamente maior quando comparada ao controle. Entre os grupos flúor e flúor + *laser*, não foram observadas diferenças estatísticas significantes.

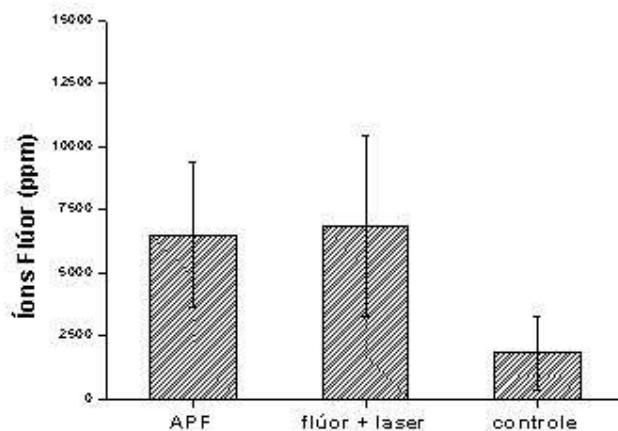


Figura 5.2: Média da incorporação de flúor no esmalte, em partes por milhão (ppm), \pm desvio padrão.

A Figura 5.3 mostra a incorporação de flúor para os diferentes grupos. É possível observar que existe uma diferença significativa entre os grupos controle e os grupos APF e irradiados. Nota-se, também, que para o grupo tratado com *laser* e depois flúor, a incorporação de flúor aumentou de 57% em relação ao grupo APF. Para o grupo flúor + *laser*, o aumento da incorporação de flúor foi de 6%.

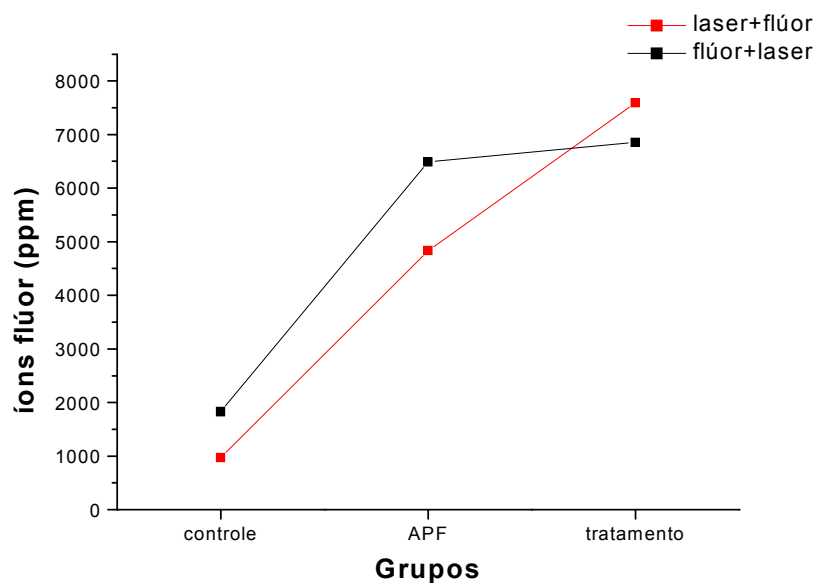


Figura 5.3: Médias da incorporação de flúor (ppm) para os diferentes grupos.

Para verificar se a profundidade da biópsia realizada no esmalte interferiu na incorporação do flúor, analisou-se a dispersão entre as duas medidas (Figura 5.4). Observou-se que não existe uma relação forte entre os valores, pois para as diversas biópsias, os valores de íons flúor variam em toda sua extensão. Destacam-se as profundidades acima de 5 μm , cujos valores variam entre 10000 e 3000 ppm.

O coeficiente de correlação[†] entre as duas medidas ficou em -0,006, indicando a inexistência de correlação entre elas.

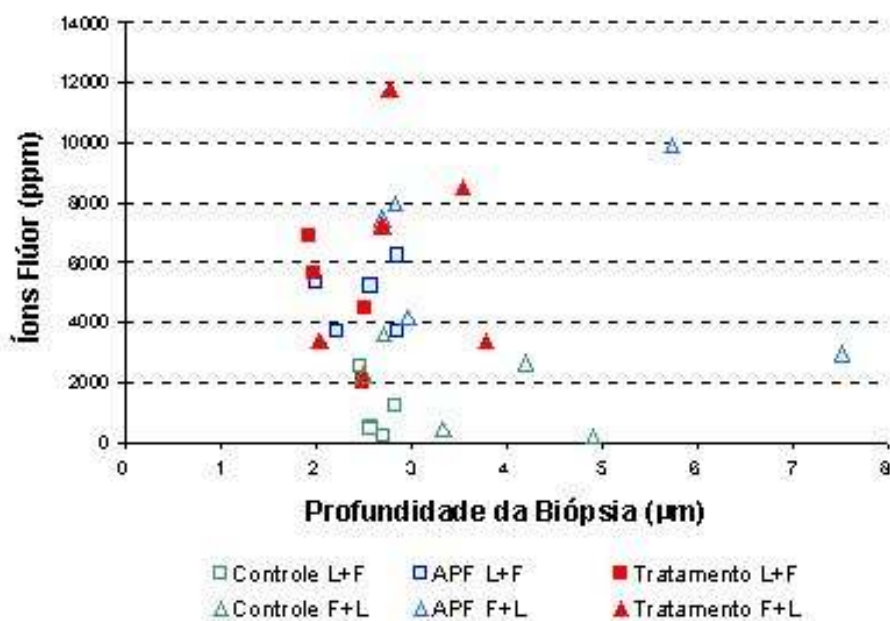


Figura 5.4: Dispersão entre a profundidade da biópsia do esmalte e a incorporação de flúor. L+F: laser + flúor. F+L: flúor + laser.

[†] O índice de correlação linear de Pearson é um índice que mede o grau de associação linear entre duas variáveis. Ele varia de -1 até 1, sendo que valores próximos de zero indicam nenhuma associação linear e valores próximos do extremo (-1 ou 1) indicam grande associação linear entre as variáveis.

5.1. Análise Inferencial

Para verificar se existe diferença significativa na média da incorporação de íons flúor entre os grupos, utilizou-se uma Análise de Variância para Medidas Repetidas (ANOVA), a qual leva em consideração que o mesmo paciente foi observado diversas vezes.

Para utilizar esta técnica com segurança, deve-se verificar duas hipóteses: esfericidade da matriz de covariâncias e normalidade dos resíduos.

Para verificar a esfericidade, utilizou-se o Teste de Mauchly, pelo qual obteve-se o nível descritivo[‡] de 0,256. De acordo com este resultado, a matriz é esférica.

Para verificar a normalidade dos resíduos, foi realizado o Teste de Anderson-Darling, pelo qual obteve-se o nível descritivo de 0,513. De acordo com este resultado, os resíduos são normais.

Com as duas hipóteses testadas, pôde-se utilizar a análise de variância com segurança (tabela 5.2).

Tabela 5.2: Análise de variância para a incorporação de íons de flúor.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrados médios	Estatística F	Nível descritivo
Tratamento	1	12777797	12777797	1,57	0,250
Voluntários (tratamento)	7	56943734	8134819	2,08	0,115
Grupos	2	114439722	54983716	14,06	0,000
Tratamento *Grupos	2	2285667	1142833	0,29	0,751
Resíduo	14	54763225	3911659		

[‡] O nível descritivo de um teste é a probabilidade de estarmos cometendo um erro ao rejeitamos a hipótese sendo que esta é verdadeira. Na maioria dos testes a hipótese testada é a hipótese de igualdade, no caso acima, a hipótese é que os desvios padrões (ou as variâncias) sejam todas iguais.

Analisando o resultado apresentado na tabela anterior e observando os valores dos níveis descritivos menores que 0,05 – os quais são significantes – tem-se:

- a interação entre modo de tratamento e grupo não foi significativa, ou seja, a diferença entre as médias dos dois modos de tratamento se mantém igual nos três grupos (controle, APF e tratamento). Isto indica que a diferença entre os modos de tratamento não foi significativa considerando os valores do controle e APF;
- existe diferença significativa entre os grupos.

Para análise das diferenças entre os grupos foi feita uma comparação múltipla pelo método LSD – *Least Significant Difference*, o qual compara os resultados dois a dois (tabela 5.3).

Tabela 5.3: Níveis descritivos para comparações múltiplas pelo método LSD – *Least Significant Difference*. As diferenças significativas estão hachuradas.

	Controle	APF	Tratamento
Controle		0,0004	0,0079
APF	0,0004		0,9998
Tratamento	0,0079	0,9998	

Pela tabela 5.3, as médias dos grupos APF e tratamento não são significativamente diferentes entre si, mas as duas são significativamente diferentes da média do grupo controle.

Esta mesma análise foi realizada considerando a profundidade da biópsia, para verificar a sua influência nos resultados. Pelos testes, obteve-se que a profundidade da biópsia não influi significativamente nos resultados de flúor (nível descritivo de 0,974).

6. DISCUSSÃO

O flúor, como método preventivo para o desenvolvimento da doença cárie vem sendo utilizado desde meados dos anos 40 e tem sido considerado um dos principais fatores para o declínio da manifestação dessa doença no âmbito mundial.

Atualmente, tem se destacado a importância da presença constante de baixos níveis de flúor na cavidade bucal a fim de se inibir a desmineralização e promover a remineralização da estrutura dentária²¹, que pode ser obtida por meio de aplicações tópicas de flúor.

Dos compostos fluoretados para aplicação tópica, os de flúor fosfato acidulado (APF) tanto sob a forma de solução ou gel, têm sido largamente utilizados na área odontológica, sendo que estudos clínicos comparando ambas as formas de apresentação não mostraram diferenças na sua eficácia e efetividade^{41, 42}. Na década de 80, apresentações de APF na forma de musse ou espuma também foram desenvolvidas, especialmente com o intuito de reduzir a quantidade do produto a ser colocado nas moldeiras em pacientes infantis. A eficácia deste produto quando comparada com a do gel de flúor fosfato acidulado foi a mesma^{36, 38}

Neste trabalho, a diferença entre a concentração média de flúor incorporado antes (controle) e após a aplicação de 4 minutos de APF no grupo L+F foi de 3861,73 ppm e no grupo F+L, 4659,41 ppm, valores similares aos encontrados por Whitford³⁶ em estudo clínico, no qual a incorporação obtida foi de 3905 ppm e de Wey⁴³, em um estudo *in vitro*, cuja incorporação foi de 4565 ppm.

Entretanto, as aplicações tópicas de flúor em altas concentrações podem trazer riscos devido à sua ingestão, portanto, cuidados deverão ser tomados durante a sua utilização⁴⁴. Pesquisas têm sido realizadas na tentativa de diminuir os riscos sem alterar a efetividade do flúor como método preventivo^{36, 38}.

Há alguns anos, o laser em baixa intensidade vem sendo utilizado na prática clínica em países como Rússia, Cuba e Itália, associado ao flúor ou não, como método preventivo da cárie dental. Entretanto, geralmente são estudos clínicos, onde avalia-se a incidência ou progressão da lesão de cárie. Tais

trabalhos sugerem que o laser em baixa intensidade associado ao flúor ou não, pode diminuir a intensidade do processo carioso^{33, 34, 31}.

Devido a escassez de trabalhos na literatura que avaliem quantitativamente a incorporação de íons flúor após irradiação com laser em baixa intensidade, este trabalho foi realizado com o objetivo de investigar os efeitos do laser de emissão vermelha na incorporação de flúor no esmalte imediatamente antes ou após a aplicação de APF por 4 minutos.

A aplicação de APF por 4 minutos foi utilizada baseando-se em trabalhos que mostraram diferenças significativas de flúor incorporado no esmalte após 1 e 4 min^{38, 45}, já que a incorporação de flúor no esmalte dental parece ocorrer por um processo de difusão e é fortemente dependente do tempo.

Neste trabalho, através de um método quantitativo, utilizando biópsia ácida, observou-se que entre os grupos G_C (controle) e G_F (flúor), houve um significativo aumento na retenção de flúor na superfície do esmalte dental após aplicação do APF, o que está de acordo com a literatura^{36, 38, 46}.

A metodologia da biópsia ácida para determinação da incorporação de flúor em esmalte, vem sendo utilizada desde 1968 por Brudevold^{35, 36, 45, 47}. Segundo esta metodologia, as amostras podem ser pequenas⁴⁸ 5-100µl, sendo os procedimentos para análise simples e requerendo pouco tempo. Contudo, a profundidade das amostras na superfície dental *in situ*, não deveria exceder 4µm, pois a remoção acima desse valor poderia causar descontinuidade na superfície do esmalte⁴⁸.

Segundo alguns autores, altas concentrações de flúor foram encontradas nas camadas mais superficiais, decrescendo conforme a profundidade⁴⁹. Devido à variada concentração de flúor em diferentes áreas da superfície do esmalte, encontra-se concentrações maiores na área cervical decrescendo até a área incisal⁵⁰. Sendo assim, selecionou-se para realização da biópsia dos diferentes grupos deste estudo, o terço médio dos incisivos centrais superiores.

Trabalhos publicados na literatura com laser em baixa intensidade na prevenção mostram resultados clínicos positivos utilizando-se a aplicação tópica do flúor antes da irradiação com laser^{31, 32, 33}.

Neste trabalho, em relação aos grupos G_{LF} (laser + flúor) e G_{FL} (flúor + laser), dentro dos parâmetros utilizados, baseados em trabalho realizado no IPEN[§], apesar de serem observadas diferenças significantes em relação ao grupo controle, não foram observadas diferenças estatísticas significantes quando comparados ao grupo flúor, provavelmente por causa do alto desvio padrão observados nos grupos. Provavelmente, este achado é devido ao número de amostras ou a algum artefato de técnica. O desvio padrão também foi alto para os grupos controle e APF.

Entretanto, é importante ressaltar que, particularmente para o grupo G_{LF} , observou-se um aumento de aproximadamente 57% dos íons de flúor na superfície do esmalte quando o laser foi utilizado. Também Muller, em resultados preliminares, observou que o laser, se utilizado antes do flúor, previne significantemente a cárie dental em molares de ratos[§], quando comparado ao grupo em que apenas o flúor foi aplicado.

De acordo com Wei e Hattab³⁸, a concentração média de flúor decai exponencialmente em relação à profundidade da biópsia no esmalte, e após 4 minutos de aplicação do APF, a maior concentração é para uma espessura de 5 μm . Sendo assim, neste trabalho padronizou-se a profundidade da biópsia em 5 μm , o que pôde ser verificado pela análise da dispersão entre os valores da profundidade da biópsia e a incorporação de flúor, que mostrou inexistência de correlação entre eles.

Trabalhos na literatura sugerem que após aplicação tópica, o flúor pode se depositar na superfície dental como fluoreto de cálcio (CaF_2), fracamente ligado, solúvel em álcali, ou de uma maneira mais permanente, fortemente ligado, na forma de apatita fluoretada. Provavelmente, o laser atuaria na formação de CaF_2 que, apesar de representar apenas uma pequena parte do flúor retido, teria um potencial cariostático, servindo como reservatório de flúor, que poderia agir como fonte de remineralização^{21, 51, 52}.

Em comparação com a utilização apenas dos compostos fluoretados, parece existir maior efetividade quando os dentes são mais suscetíveis à cárie.

[§] Muller, KP. **Estudo dos efeitos da radiação laser em baixa intensidade na prevenção da cárie dental**. Dissertação de Mestrado em andamento.

Isto poderia ocorrer devido ao aumento da resistência do esmalte, como sugerem alguns autores³⁴.

Embora a relação exposição laser-resposta ainda não tenha sido esclarecida e os mecanismos básicos responsáveis pelos efeitos observados no intervalo de doses terapêuticas não sejam completamente entendidos, sabe-se que do ponto de vista eletromagnético, sistemas vivos são principalmente governados por sua interação eletromagnética, que interagem com partículas chamadas fótons. Cada interação entre moléculas, macromoléculas ou células vivas são basicamente eletromagnéticas e governadas por fótons. Por esta razão, pode-se esperar que a influência eletromagnética como a luz laser com comprimento de onda adequado possa interferir na regulação de processos vivos. Considerando, particularmente, o uso do laser como um coadjuvante na prevenção da cárie dental, estudos precisam ainda ser realizados no intuito de compreender os mecanismos envolvidos no processo.

Os resultados encorajadores obtidos neste trabalho motivam novas pesquisas para que o laser em baixa intensidade possa ser utilizado na Saúde Pública, associado ao flúor, como método preventivo da cárie dental.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo indicam que:

- O *laser* em baixa intensidade, quando utilizado antes da aplicação tópica de flúor, pode aumentar a incorporação de flúor na superfície do esmalte, embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas significantes em relação ao grupo que recebeu apenas aplicação tópica de flúor;
- O *laser* em baixa intensidade, quando utilizado após a aplicação tópica de flúor, não mostrou diferenças em relação ao grupo que recebeu apenas aplicação tópica de flúor;
- Ambos os grupos que receberam irradiação *laser* mostraram incorporação de flúor significativamente diferente do grupo controle sem tratamento.

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Este documento tem a finalidade de fornecer informações necessárias para você avaliar a possibilidade de participar da pesquisa ***Efeitos da Radiação Laser de Emissão Vermelha em Baixa Intensidade na Incorporação de Flúor no Esmalte. Estudo Clínico.*** O objetivo deste trabalho é verificar se o uso do laser em baixa intensidade aumenta a ação do flúor na superfície do esmalte.

Para participar do estudo, os voluntários devem ter idade de 9 a 17 anos, podendo ser de ambos os sexos, ter boa saúde geral, com os incisivos, dentes da frente totalmente erupcionados, com superfície dentária íntegra, livre de cáries. Nenhum tipo de medicamento ou solução deverá ser usado sem que o pesquisador seja consultado.

Durante o atendimento, serão feitas fotos da cavidade oral para acompanhamento do estudo, mas elas não serão identificadas, mantendo-se sigilo da identidade do indivíduo quando da publicação dos resultados do trabalho.

Este estudo não traz risco ao paciente, já que a aplicação de flúor é um tratamento preventivo preconizado e confirmado. Em relação à biópsia ácida, o procedimento é conservador e utilizado como padrão por vários grupos de pesquisa de renome internacional na área da prevenção da cárie. O tratamento a laser não envolve risco, nem aquecimento ao tecido, pois o laser a ser utilizado emite em baixa intensidade. Para se evitar qualquer risco ou problema decorrente do feixe laser, os voluntários deverão usar os óculos de proteção fornecidos pelo pesquisador e nenhuma outra pessoa sem óculos poderá permanecer na sala durante o tratamento com o laser. Como benefício, o paciente receberá um tratamento preventivo com flúor.

O responsável pela pesquisa responderá a qualquer dúvida do participante e informará o resultado do estudo. No caso de algum dano decorrente do tratamento, o cirurgião-dentista assumirá inteira responsabilidade e prestará assistência total.

Qualquer dúvida ou problema, o voluntário poderá entrar em contato com Regina Keiko Nakasone, cirurgião dentista, CRO/SP: 1663 nos telefones (27) 33252221 ou (27)33252104 ou Profa. Martha Simões Ribeiro (11) 38169313.

Eu, _____,
responsável por _____,
confirmando que recebi de maneira clara todas as informações com relação à pesquisa intitulada ***Efeitos da Radiação Laser de Emissão Vermelha em Baixa Intensidade na Incorporação de Flúor no Esmalte. Estudo Clínico.***

NOME:

R.G.:

ASSINATURA:

ANEXO B - Ficha de Avaliação Clínica

Nome _____

Nome do responsável _____

Data de nascimento _____ Sexo _____

Naturalidade _____ Profissão _____

Endereço _____

Bairro _____ Fone _____

1. Está fazendo algum tratamento médico atualmente? Sim () Não ()

Qual? _____

2. Já teve alguma reação incomum à anestesia dental? Sim() Não()

Qual? _____

3. Já teve alguma reação alérgica quando tomou:

Antibióticos? _____

Antiinflamatórios? _____

Algum outro medicamento? _____

4. Já realizou algum tratamento odontológico, anteriormente? Sim() Não()

Há quanto tempo? _____

5. Algum dentista já lhe ensinou como escovar os dentes? Sim() Não()

6. Já teve alguma ferida, ou bolha no interior da boca, face ou lábios?

Sim() Não()

Em que lugar, e qual a duração? _____

7. Já passou flúor nos dentes alguma vez? Sim () Não () Quantas vezes? ()

8. Além da escova de dentes, você utiliza o fio dental? Sim () Não ()

Com que frequência você utiliza o fio dental? _____

Quantas vezes por dia você escova os dentes? _____

9. Apresenta, atualmente, algum dente doendo? Sim() Não ()

Qual? _____ Em que condições a dor se manifesta? _____

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ Newbrun E. **Cariologia**. Editora Santos, São Paulo, SP, Brasil, 1988.
- ² Baratieri LN. **Odontologia Restauradora – fundamentos e possibilidades**. Editora Santos, São Paulo, Brasil, 2001.
- ³ Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. **JADA**, v.131, p.887-899, 2000.
- ⁴ Baratieri, LN. **Procedimentos preventivos e restauradores**, Editora Santos, 1989.
- ⁵ Duarte S, Koo H, Bowen WH, Hayacibara MF, Cury JA, Ikegaki M, Rosalen PL. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biol Pharm Bul.**, v.26, p.527-531, 2003.
- ⁶ Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of própolis on dental caries in rats. **Caries Res.**, v.25, p.347-351, 1995.
- ⁷ Rosalen PL, Bowen WH, Pearson SK. Influence of fluoride co-crystallized with sugar on caries development in desalivated rats. **Arch Oral Biol.**, v.42, p.317-322, 1997.
- ⁸ Eduardo PLP. **Estudo *in vitro* das alterações morfológicas e químicas do esmalte dental bovino irradiado pelo laser de hólmio**. Dissertação (Mestrado). 2001. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- ⁹ Boari HGD. **Avaliação clínica da eficiência do laser de Nd:YAG associado ao fluor fosfato acidulado na prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças e adolescentes**. Dissertação (Mestrado). 2000. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- ¹⁰ Pelino JEP. **Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dental humano: análise por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura**. Dissertação (Mestrado). 1998. Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de São Paulo, São José dos Campos.

-
- ¹¹ Cecchini RC, Pelino JE, Mello JB, Cardoso JB, Salvador VI, Eduardo CP. Acid resistance of enamel treated with Nd:YAG laser associated with fluoride and exposed to a *S. mutans* culture media. In: **Proc. of 6th International Congress of Lasers in Dentistry**, v.53-57, 1998.
- ¹² Thylstrup A, Fejerskov O. **Cariologia Clínica**. Livraria Editora Santos, 1995.
- ¹³ Loesche WJD. **Cárie: uma infecção tratável**. Editora Cultura Médica, 1993.
- ¹⁴ Krasse B. **Risco de cáries – guia prático para controle e assessoramento**. Quintessence Editora Ltda, 1988.
- ¹⁵ Ferreira MVL. **Estudo *in vitro* da fusão de hidroxiapatita e esmalte em superfícies de esmalte humano pelo laser de Nd:YAG**. Dissertação (Mestrado) 2000. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- ¹⁶ Weyne S. Cariologia. In Baratieri LN. **Odontologia Restauradora – fundamentos e possibilidades**. Editora Santos, São Paulo, Brasil, 2001.
- ¹⁷ Storino SP. **Princípios de Cariologia**. Editora de Publicações Médicas Ltda, 1988.
- ¹⁸ Prev. News, The oral case report, v.7, n.2, p.3-5, 1997, *apud* BOARI HGM. **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 (Mestrado). 2001. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- ¹⁹ Cury J. Uso do flúor. In Baratieri LN. **Procedimentos preventivos e restauradores**, Editora Santos, cap.2, p.43-67, 1989.
- ²⁰ Moreno EC. Role of Ca-P-F in caries prevention: chemical aspects. *apud* Buzalaf MAR. **Bioquímica do flúor. Manual didático**, Bauru, 1996.
- ²¹ Buzalaf MAR. **Bioquímica do flúor. Manual didático**, Bauru, 1996.
- ²² Bruun, C; Givskov, H. Formation of CaF₂ on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride application in vitro. **Caries Res**, vol. 25, p. 96-100, 1991.
- ²³ Stern RH, Sognaes RL. Laser beam effect on dental hard tissue. **J. Dent. Res.**, v.43, p.873 (suppl), 1962.

²⁴ Stern RH, Val J, Sognaes RF. Lased enamel: ultrastructural of pulsed carbon dioxide laser effects. *J. Dent.*, v.51, n.2, p.455-60, 1972 *apud* Pelino JEP. **Estudo in vitro do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dental humano: análise por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura**. Dissertação (Mestrado). 1998. Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de São Paulo, São José dos Campos.

²⁵ Yamamoto H, Ooya K. Potencial of yttrium aluminum garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol.*, v.3, n.1, p.7-15, 1974.

²⁶ Tagomori S, Morioka T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.*, v.23, p.225-31, 1981.

²⁷ Mester E. A laser sugar alkalmazása a gyógykezelésben. *Orv. Hetilap.*, v.107, p.1012, 1966 *apud* Ribeiro MS. **Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele**. Tese (Doutorado). 2000. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

²⁸ Ribeiro MS. **Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele**. Tese (Doutorado). 2000. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

²⁹ Slujáiev IF, Park AN. Influência da luz do laser Hélio-Neon sobre a solubilidade do esmalte dos dentes em situação normal e em casos de cárie. *Stomatologia (Mosk)*, v.69, n.5, p.6-9, 1990.

³⁰ Slujáiev IF, Kuskova GM. El efecto de la luz laser helioneón en la severidad de la caries dental en niños dispensarizados. *apud* Andreu MIG, Zaldivar CV, D'Bem AG. Influencia de la radiación laser de baja potencia en molares permanentes inmaduros. *Rev. Cubana Estomatol.*, v.33, n.1, 1996.

³¹ Andreu MIG, Zaldivar CV, D'Bem AG. Influencia de la radiación laser de baja potencia en molares permanentes inmaduros. *Rev. Cubana Estomatol.*, v.33, n.1, 1996.

³² Mukashev TK. El uso de la radiación laser de helioneon en el tratamiento combinado y en la prevención de la caries dental en niños. *Stomatologia (Mosk)*, v.70, n.2, p.67-9, 1991.

³³ Kunin A, Kharin OV. El uso de barniz de fluor y laser helioneon en la prevención de la caries de los dientes temporales. *Stomatologia (Mosk)*, v.70, n.4, p.71-2, 1991.

³⁴ Kunin A, Dergunova E, Kazmina S. Laser methods of caries prophylaxis, *In Spie*, v.2630, p.94-103, 1994.

³⁵ Stamm JW. Fluoride uptake from topical sodium fluoride varnish measured by an *in vivo* enamel biopsy. *J. Canad. Dent. Assn.*, v.7, p.501-5, 1974.

³⁶ Whitford GM, Adair SM, Hanes CMM, Perdue EC, Russell CM. Enamel uptake and patient exposure to fluoride: comparison of APF gel and foam. *Pediatric Dentistry*, v.17, n.3, p.199-203, 1995.

³⁷ Fiske CM, Subbarow Y. The colorimetric determination on phosphorus. *apud* Sarmiento RV. **Efeito do tempo de aplicação da incorporação, retenção e ação anticariogênica do flúor fosfato acidulado – estudo *in situ***. Tese (Doutorado). 1997. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

³⁸ Wey SHY, Hattab FN. Time dependence of enamel fluoride acquisition from APF gel I. *In vitro* study. *Pediatric Dent*, v.10, n.3, p.168-176, 1988.

³⁹ Retief DH, Cleaton-Jones PF, Turkstra J *et al*. The quantitative analysis of sixteen elements in normal human enamel and dentine by neutron activation analysis and high resolution gamma-spectrometry. *Arch Oral Biol*, v.16, p.1257, 1971. *apud* Stamm JW. Fluoride uptake from topical sodium fluoride varnish measured by an *in vivo* enamel biopsy. *J. Canad. Dent. Assn.*, v.7, p.501-5, 1974.

⁴⁰ Manley RS. and Hodge HC. Density and refractive index studies in dental hard tissues. *J Dent Res*, v.18, p.133, 1939. *apud* Stamm JW. Fluoride uptake from topical sodium fluoride varnish measured by an *in vivo* enamel biopsy. *J. Canad. Dent. Assn.*, v.7, p.501-5, 1974.

⁴¹ Ingraham RQ, Williams JE. An evaluation of the utility of application and cariostatic effectiveness of phosphate- fluoride insolution an gel states. *J Tenn Dent Assoc*, v.50, n.1, p.5-12, 1970 *apud* Sarmiento RV. **Efeito do tempo de aplicação na incorporação, retenção e ação cariogênica do flúor fosfato acidulado – estudo *in situ***. Tese (Doutorado). 1997. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

⁴² Horowitz HS, Doyle J. The effect on dental caries of topically applied acidulated phosphate-fluoride: results after three years. *J. Am Dent Assoc*, v.82, n.2, p.359-365, 1971 *apud* Sarmiento RV. **Efeito do tempo de aplicação da incorporação, retenção e ação anticariogênica do flúor fosfato acidulado – estudo *in situ***. Tese (Doutorado). 1997. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

⁴³ Wey SHY, Hattab FN. Enamel fluoride uptake from a new APF foam . **Pediatric Dentistry**, v.10, n.2, p.111-114, 1988.

⁴⁴ Le Compte EJ. Clinical application of topical fluoride products – risks, benefits and recommendations. **J Dent Res**, v.66, p.1066-71, 1987.

⁴⁵ Wey SHY, Lau EWS, Hattab FN. Time dependence of enamel fluoride acquisition from APF gels II. In vivo study. **Pediatric Dent**, v.10, n.3, p. 173-184, 1988

⁴⁶ Sluiter JA, Purdell-Lewis DJ. Lower fluoride concentrations for topical application. In study on human dental enamel. **Caries Res.**, v.18, p.56-62, 1984.

⁴⁷ Brudevold F, McCann HG, Gron P. An enamel biopsy method for determination of fluoride in human teeth apud Brudevold F, Reda A, Aasenden R, Bakhos Y. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. **Arch Oral Biol**, v.20, p.667-673, 1975.

⁴⁸ Brudevold F, Reda A, Aasenden R, Bakhos Y. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. **Arch Oral Biol**, v.20, p.667-673, 1975.

⁴⁹ Brudevold F, Gardner DE, Smith FA. The distttribution of fluoride in human enamel apud in Koulourides N, Walker A. Fluoride distribution in the facial surfaces of human maxillary central incisors. **J Oral Pathol**, v.8, p.179-183, 1979.

⁵⁰ Koulourides N, Walker A. Fluoride distribution in the facial surfaces of human maxillary central incisors. **J Oral Pathol**, v.8, p.179-183, 1979.

⁵¹ Saxegaard E, Rølla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. **Scand J Dent Res**, v.96, n.6, p.523-535, 1988.

⁵² Bruun C, Givskov H. Formation of CaF₂ on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride application in vitro. **Caries Res**, v.25, p.96-100, 1991.