



BR0645208

BR0645208



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER EM BAIXA INTENSIDADE
NA PREVENÇÃO DA CÁRIE DENTAL
INDUZIDA EM RATOS**

KARIN PRAIA MÜLLER

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

Orientadora:
Dra. Martha Simões Ribeiro

**São Paulo
2004**

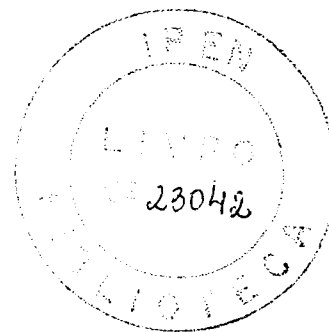
14-002:

e

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

*EFETOS DA RADIAÇÃO LASER EM BAIXA INTENSIDADE NA PREVENÇÃO
DA CÁRIE DENTAL INDUZIDA EM RATOS*

KARIN PRAIA MÜLLER



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

Orientadora:
Dra. Martha Simões Ribeiro

SÃO PAULO

2004

*Ao meu marido Caio,
pelo amor, amizade, paciência e
apoio durante todos os momentos.*

*Aos meus pais, Ernst e Eunice (Eca e Mami),
que sempre acreditaram em mim e me incentivaram
em todas as minhas escolhas e decisões.*

*Ao meu irmão Ricardo,
por toda amizade e companheirismo.*

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, **Professora Dra. Martha Simões Ribeiro**, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação, pela amizade e pelo apoio e presença constante em todas as fases da minha pesquisa;

Ao **Professor Dr. Flávio Fava de Moraes**, por tornar possível a minha vinda para São Paulo;

Ao **Professor Dr. Carlos de Paula Eduardo**, por me dar a oportunidade de fazer parte de sua equipe, me ajudar em todos os momentos e me introduzir nesta maravilhosa área da odontologia;

Ao **Professor Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge** do Departamento de Microbiologia da Universidade de Taubaté, pelo fornecimento das bactérias e rica colaboração neste trabalho;

À **Nanci**, responsável pelos animais do Biotério do IPEN, ao **Cícero e Calixto**, e, especialmente à **Neide**, pela ajuda com os ratos, possibilitando o desenvolvimento do procedimento experimental;

À **Professora Dra. Ligia Ely M. Ferreira Dias**, do Centro de Biologia Molecular do IPEN pela colaboração e indispensável ajuda para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao **Fernando J. F. Moreira**, pela ajuda e informações fornecidas ao longo deste período;

Ao **Nildemar, René e Celso**, pelo trabalho de Energia Dispersiva de Raio-X associado à Microscopia Eletrônica de Varredura;

Ao **René**, pela amizade e ajuda fornecida durante todo o trabalho;

À **Professora Dra. Denise Zzell**, pelo apoio e amizade;

À **Professora Dra. Sônia Lícia Baldocchi**, por nos conceder acesso ao Microscópio Óptico, fundamental para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao **Professor Dr. Nilson Vieira Jr.**, gerente do Centro de Laser e Aplicações e ao **Professor Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira**, chefe da Divisão de Aplicações de Laser, por conceder acesso à utilização das instalações e dos equipamentos do Centro de Lasers e Aplicações;

À **Aninha**, que com muito carinho e atenção me ensinou a utilizar o microscópio óptico;

À minha amiga **Flavia**, que juntas passamos com sucesso por momentos difíceis neste mestrado;

À minha amiga **Stella**, pela amizade e apoio durante todos esses anos de convívio;

Ao **Aécio**, pela amizade e pela ajuda fornecida na execução do procedimento experimental;

À **Silvinha e Regina**, pelas constantes e importantes discussões e troca de conhecimento enriquecendo este trabalho;

Aos colegas e amigos de laboratório do CLA: *Aguinaldo, Cassius, Claudinha, Daniela, Luciano, Marcella, Patrícia, Renata, Ricardo, e Walter* pela colaboração, apoio e amizade;

A *Professora Dra. Célia Regina M. D. Rodrigues*, do Departamento de Odontopediatria da FOUSP, pelas sugestões, estímulo, entusiasmo e colaboração no desenvolvimento deste trabalho;

A *Raquel Rocha*, doutoranda do Departamento de Odontopediatria da FOUSP, pela disponibilidade do seu tempo, conhecimento e sua inestimável ajuda na execução experimental;

Aos colegas e amigos da clínica SOL: *Teresa, Luciane, Fernanda, Patrícia, Rosa, Luis Ricardo, Ana e Celma* pela amizade e todos esse anos de convívio;

A minha grande amiga *Graziela*, pela ajuda, carinho e amizade durante todos esses anos;

As secretárias da Pós Graduação do IPEN: *Ana, Ilze e Vera*, por todas informações fornecidas ao longo deste período;

A *Elsa e ao Sr. Tito*, pela atenção e eficiência;

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

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

Ao *CNPq*, pelo apoio financeiro;

Enfim, a todas as pessoas que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER EM BAIXA INTENSIDADE NA PREVENÇÃO DA CÁRIE DENTAL INDUZIDA EM RATOS

Karin Praia Muller

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da terapia laser em baixa intensidade, associada ou não ao flúor fosfato acidulado, na prevenção da cárie dental induzida em ratos. Foram utilizadas 40 ratas Wistar, desmamadas 18 dias após o nascimento, sendo alimentadas com dieta cariogênica por 48 dias e inoculadas com *S. mutans* por três dias consecutivos a partir do 2º dia da dieta. No 5º dia de experimento, os animais foram divididos em cinco grupos: grupo G_C (controle) – sem tratamento; grupo G_L (laser) - irradiação com o laser de baixa potência de AsGaAl ($\lambda=660\text{nm}$, $P=30\text{mW}$, $\Delta t=5\text{s}$, $5\text{J}/\text{cm}^2$); grupo G_F (flúor) - aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA 1,23%) por 4 minutos; grupo G_{LF} (laser + flúor) - irradiação com o laser de baixa potência seguida de aplicação tópica de flúor fosfato acidulado; grupo G_{FL} (flúor + laser) - aplicação tópica de flúor fosfato acidulado seguido de irradiação com o laser de baixa potência. Os animais foram sacrificados após 48 dias, os molares extraídos e preparados para a determinação da área de lesão de cárie por microscopia óptica, determinação da microdureza e análise da razão cálcio e fósforo utilizando espectroscopia por energia dispersiva de raio-X (EDS). Os dados obtidos neste estudo foram submetidos à análise estatística ANOVA e foram considerados significantes quando $p<0.05$. Ao microscópio óptico, observou-se que a área de lesão de cárie para o grupo G_{LF} era menor quando comparado aos grupos G_C , G_L , G_F e G_{FL} , no entanto, não apresentou diferença estatística significativa quando comparado aos grupos G_F e G_{FL} . Em relação à microdureza, foi observado que não houve diferença estatística entre o grupo G_L e G_C e entre os grupos G_{LF} , G_{FL} e G_F , porém, houve diferença estatística entre estes três últimos grupos com os grupos G_L e G_C . Em relação à razão cálcio e fósforo, não houve diferença estatística significativa entre os grupos. Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o laser em baixa intensidade associado ao flúor fosfato acidulado diminui a área de lesão de cárie e pode ser uma alternativa na prevenção da cárie dental.

EFFECTS OF THE LOW-INTENSITY LASER THERAPY ON THE PREVENTION OF DENTAL CARIES INDUCED IN RATS

Karin Praia Müller

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of low intensity laser therapy, associated or not to an acidulated phosphate fluoride, on the prevention of dental caries induced in rats. It was used 40 Wistar rats, female, weaned with 18 days, fed with a cariogenic diet during 48 days and inoculated orally with *Streptococcus mutans* by three consecutive days starting from the 2nd day of the diet. On the 5th day of experiment the animals were divided into five groups: G_C (*control*) the animals were not submitted to any treatment; G_L (*laser*) irradiation with low power laser (GaAlAs, $\lambda=660\text{nm}$, $P=30\text{mW}$, $\Delta t=5\text{seg}$, $5\text{J}/\text{cm}^2$); G_F (*fluoride*) topical application of acidulated phosphate fluoride (APF 1,23%) for four minutes; G_{LF} (*laser + fluoride*) irradiation with low power laser followed by topical application of acidulated phosphate fluoride; G_{FL} (*fluoride + laser*) topical application of acidulated phosphate fluoride followed by low power laser. The animals were sacrificed after 48 days; the molars were extracted and prepared to determine the dental caries lesions area by optical microscopy, enamel microhardness and analysis of the calcium and phosphorus ratio (Ca/P) by energy dispersive spectroscopy. The results were statistically analyzed by ANOVA ($p<0.05$). It was observed that the percentage of dental caries areas for the group G_{LF} was smaller than that for G_F and G_{FL} groups but no statistical difference was observed. There was no significant statistical difference between the microhardness of the G_C and G_L groups and among G_{FL} , G_{LF} and G_F groups. Regarding to the calcium and phosphorus ratio, it was not observed significant statistical differences among the groups. These findings suggest that low-intensity laser radiation associated with acidulated phosphate fluoride reduces the caries area and could be an alternative in the prevention of the dental caries.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 Cárie Dental	5
3.1.1 Microrganismos Específicos	6
3.1.2 Substrato	8
3.1.3 Hospedeiro	9
3.2 Cárie Experimental em Ratos	10
3.3 Métodos de Prevenção de cárie	13
3.3.1 Flúor Sistêmico	16
3.3.2 Flúor Tópico	19
3.4 Lasers Em Prevenção De Cárie	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 Modelo experimental	28
4.2 Microscopia óptica	30
4.3 Microdureza	30
4.4 Energia Dispersiva de Raios-X (EDS)	31
5. RESULTADOS	33
5.1. Microscopia óptica	33
5.2 Razão Ca/P	36
5.3 Microdureza	38
5.4 Espectro de absorção do flúor	40
6. DISCUSSÃO	41
7. CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FA - flúor fosfato acidulado

F - flúor

L - laser

EGM - estreptococos do grupo *mutans*

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

CaF₂ - fluoreto de cálcio

HA - hidroxiapatita

ppm - partes por milhão

APF - *acidulated phosphate fluoride* - flúor fosfato acidulado

NaF - fluoreto de sódio

J - joule

D - densidade de energia

mW - miliwat

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.

EDS - Energia dispersiva de raios-X

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se observado um declínio na prevalência da cárie dental, não só nos países industrializados como também em alguns em desenvolvimento¹. Este fenômeno é atribuído, em grande parte, à utilização de produtos fluoretados². Mesmo assim, observa-se que a cárie dental continua sendo um dos maiores problemas da Odontologia e a diminuição do índice de cárie tem sido uma evidente preocupação para a manutenção da saúde do ser humano.

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 miligramas de minerais dos dentes afetados, causada por ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta^{3, 4, 5}.

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. Nestas condições, podem desenvolver-se biofilmes dominados por bactérias cariogênicas e, após um certo período de tempo, aparecerem as lesões de cárie³. A progressão da cárie ou o processo de reversão da mesma é determinado pelo balanço entre os fatores de proteção e os fatores patológicos⁶.

Atualmente, o flúor tem sido o fator que mais contribui para o controle e desenvolvimento da cárie. O flúor é utilizado de diversas formas, tais como; nas águas de abastecimento, uma das principais medidas de saúde pública com o objetivo de reduzir os níveis de cárie na população⁷; fluoretação do sal de cozinha; pastas de dente fluoretadas, soluções para bochechos, flúor tópico⁸.

(aplicação profissional), entre outras formas existentes. A habilidade do flúor de prevenir a cárie dental quando administrado de forma sistêmica ou de forma tópica é conhecida há muitos anos. Os benefícios trazidos pelas diferentes formas de utilização do flúor são resultantes dos diferentes mecanismos de ação que ele possui ¹¹.

A Odontologia moderna se preocupa com a máxima preservação do elemento dental. A experiência clínica e uma enorme quantidade de pesquisas odontológicas têm ensinado aos dentistas sobre a necessidade de estratégias de prevenção de cárie visando aumentar a resistência do esmalte dental à dissolução ácida através da introdução de métodos e materiais profissionais, tais como as soluções para bochecho, dentifrícios fluoretados, a própolis^{12, 13} e agora também a utilização da tecnologia laser.

As características especiais que diferenciam a luz laser da luz comum, como a monocromaticidade, a coerência e a direcionalidade faz do laser um instrumento de grande interesse e importância para aplicações nas áreas da Saúde. No caso da prevenção de cárie dental, os lasers mais estudados e utilizados para tal procedimento são os lasers de alta potência. 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 ácido¹⁴.

Atualmente, o laser de Nd: YAG ($\lambda = 1064 \text{ nm}$), é bastante utilizado na Odontologia como método preventivo à cárie dental¹⁵. Pesquisas envolvendo este comprimento de onda mostraram uma marcável redução da suscetibilidade da dissolução ácida do esmalte dental^{16,17}. 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 que a maioria das aplicações do laser em baixa intensidade na Odontologia é direcionada a tecidos moles, nos anos recentes tem aumentado o interesse em relação a sua aplicação em tecidos duros.

A cárie sendo conhecida como uma doença multifatorial, deve ser prevenida, não apenas combatendo seu agente causal como também aumentando a resistência do hospedeiro e melhorando as condições do meio ambiente bucal. Com base nisto, a Odontologia Preventiva busca constantemente novos métodos para aumentar a resistência da estrutura dental e desta forma prevenir a cárie. Nos últimos anos, foram publicados trabalhos experimentais e clínicos que utilizaram o laser de baixa potência para aumentar a resistência do esmalte dental baseando-se em análises clínicas e subjetivas. Estes trabalhos mostram que o laser de baixa potência é uma alternativa promissora para a Odontologia no que diz respeito à prevenção da cárie dental.

Neste trabalho foi utilizado um protocolo de indução de carie em animais para ser possível analisar mais objetivamente os efeitos da radiação laser em baixa intensidade na prevenção de carie dental. Este tipo de laser, além de não provocar danos à estrutura dental, tem um custo relativamente baixo, o que é de grande interesse para Saúde Pública.

2. OBJETIVOS

Geral:

- Investigar os efeitos da terapia com laser em baixa intensidade associada ao flúor fosfato acidulado, ou não, na prevenção da cárie dental;

Específicos:

- Avaliar a extensão das lesões de cárie nos molares dos ratos por microscopia óptica utilizando um corante à base de azul de metileno;
- Determinar a microdureza do esmalte em fundo de fissura utilizando um microdurômetro;
- Verificar a razão cálcio e fósforo no esmalte dental por meio de microscopia eletrônica de varredura associado à espectroscopia de energia dispersiva de Raios-X.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cárie Dental

A cárie dental é uma doença infecciosa oportunista, de caráter multifatorial, fortemente influenciada pelos carboidratos da dieta e pela ação dos componentes salivares que se manifesta clinicamente por perdas minerais localizadas resultando na destruição dos tecidos dentários^{3,4,5}.

A doença cárie é, de certa forma, uma doença “nova” do homem, como indicam os estudos com fósseis africanos. Acredita-se que esta doença só apareceu, verdadeiramente, quando o homem deixou de ser caçador e começou a usar açúcar. O aparecimento de lesões cariosas é o sinal clínico patognomônico da atividade desta doença que é mediada pela presença de biofilmes bacterianos. No entanto, para que essas placas possam comportar-se de maneira cariogênica, é preciso que ocorra durante determinado período a interação em condições críticas de diversos fatores normalmente presentes nesses ecossistemas⁵.

Seu caráter multifatorial e seu aparecimento estão associados à interação de três fatores essenciais: o hospedeiro, representado pelos dentes e a saliva, a microbiota da região e a dieta consumida. Para que a cárie possa ocorrer, estes fatores devem não apenas estar presentes, mas também interagir em condições críticas: um hospedeiro com tecidos susceptíveis (dentes), colonizados por uma microbiota com potencial cariogênico e consumindo com frequência uma dieta rica em sacarose⁵.

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 desenvolver¹⁸.

3.1.1. Microrganismos Específicos

Os fatores fundamentais que conduzem ao início das lesões cariosas foram primeiramente elucidados por Miller em 1890, quando ele reconheceu que o metabolismo dos carboidratos através das bactérias orais com a geração dos produtos finais ácidos se constituía no evento central do processo de desmineralização do dente¹⁸.

As principais patologias que podem afetar o ecossistema bucal, as doenças cárie e periodontal, são condições mórbidas multifatoriais, ubíquas na população, sendo mediadas pela presença de biofilmes bacterianos, ou seja, são fenômenos de superfície. No presente, os biofilmes bacterianos têm sido definidos como biofilme que se forma naturalmente na superfície dos dentes e cuja presença, em condições de homeostasia, isto é, em um estado de equilíbrio dinâmico com a resistência orgânica e as estruturas locais, é compatível com a integridade dos tecidos colonizados. Nessas circunstâncias, a presença destes biofilmes dificulta a colonização da boca por espécies microbianas exógenas, inclusive as patogênicas. Por outro lado, as evidências disponíveis confirmam que a formação dos biofilmes é o evento central que medeia o começo e a progressão das principais doenças bucais e dá suporte à percepção de que os biofilmes dentários patogênicos não se formam espontaneamente, mas sim, em resposta a certos tipos de pressões que produzam alterações ambientais mais duradouras. Nessa vertente, a transição do estado de saúde para o de doença dentro dos biofilmes está relacionada com mudanças na composição e no metabolismo das populações bacterianas presentes. Conseqüentemente, a manutenção de condições ambientais que garantam a estabilidade da comunidade bacteriana do biofilme pode prevenir ou reduzir a incidência de lesões cariosas e periodontais¹⁹.

O fator cariogênico mais essencial para o desenvolvimento da cárie é a seleção e dominância de certos grupos de microrganismos específicos, bactérias produtoras de compostos ácidos. Nessas

circunstâncias pode haver substancial queda de pH do biofilme, agregando-lhe, dessa forma, um grande potencial desmineralizador. Assim, a responsabilidade pela cárie dental é atribuída a um tipo específico que é o biofilme cariogênico, decisivamente influenciada pela dieta do hospedeiro, ou seja, pela ingestão freqüente de carboidratos fermentáveis²⁰.

Entre os microrganismos considerados cariogênicos, destacam-se os estreptococos do grupo *mutans* (EGM), que são transmitidos de um ser humano para outro, dentro do ambiente familiar, por intermédio da saliva, durante um período de tempo relativamente curto na primeira infância. Tudo indica que a fonte primária da infecção cariogênica nas crianças é a mãe, configurando o que se chama em epidemiologia de transmissão vertical³.

Alguns microrganismos são mais importantes que outros na patogenia da cárie dentária, como o *Streptococcus mutans*, o *Lactobacillus spp* e algumas espécies de *Actinomyces*. O *S. mutans* em geral está associado à fase inicial da cárie, o *Lactobacillus spp* com o desenvolvimento posterior da lesão e os *Actinomyces spp* com a cárie de raiz. Não é o número de microrganismos, 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 microrganismos cariogênicos, tais como *Lactobacillus spp* e *S. mutans*, que o paciente apresenta²¹.

Quanto mais precoce for a infecção por microrganismos, ou seja, quanto mais cedo for a sua inoculação na cavidade oral, especialmente por EGM, melhores serão as condições para se instalar uma superpopulação bacteriana. As bactérias aderem à película dental formando colônias denominadas de biofilme bacteriano. Quanto mais precocemente ocorrer esta infecção, maior será a quantidade de bactérias que o indivíduo terá em sua vida adulta e, portanto, maior será a possibilidade de formar grandes quantidades de biofilme. As bactérias cariogênicas são

acidogênicas e acidúricas, produzem e sobrevivem em ambientes ácidos. Na presença de substratos ricos em sacarose essas bactérias os metabolizam produzindo ácidos, que facilitam ainda mais a sua aderência ao biofilme, tornando os biofilmes mais porosos, e contribuindo para um maior fluxo de sacarose para seu interior²².

As superfícies preferidas para a formação dos biofilmes são aquelas que apresentam uma junção líquido-sólida. Em outras palavras, os biofilmes se formam em qualquer superfície exposta à presença de microrganismos, água e uma pequena quantidade de nutrientes. Sabe-se, por exemplo, que as proteínas salivares adsorvidas sob a forma de uma película conferem propriedades ao mineral dos dentes garantindo a aderência das bactérias²³.

3.1.2. Substrato

A dieta exerce um papel fundamental no desenvolvimento da cárie dental. Nota-se historicamente que, a medida em que os alimentos naturais, mais fibrosos, foram sendo substituídos por produtos industrializados, com maior teor de hidratos de carbono, ocorreu um grande aumento na incidência da doença cárie. A frequência da ingestão, a qualidade e a consistência do alimento à base de sacarose contribuem em maior ou menor grau para a difusão da sacarose para o interior do biofilme alterando assim o equilíbrio entre desmineralização e remineralização (DES-RE)¹⁵.

Dietas ricas em sacarose são altamente cariogênicas, pois é o principal substrato utilizado pelo *S. mutans* na formação de ácido e subsequente queda do pH no ambiente do biofilme²⁴.

O estudo de Vipeholm, na Suécia, 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 alimentação²⁵.

Cury *et al.* (2000), confirmaram em um experimento desenvolvido em voluntários humanos, que a placa dental formada na presença de sacarose é mais cariogênica do que a derivada da mistura glicose+frutose, o que pode ser explicado pela alta concentração de glucano insolúvel em sua matriz, formado exclusivamente a partir da sacarose²⁶.

A sacarose não é necessária para inserção inicial do *S. mutans* na superfície dentária. Entretanto, para o desenvolvimento posterior de colônias microbianas, a sacarose tem papel importante. Somente com sacarose a colônia desse microrganismo é formada com forte aderência à superfície dentária²¹.

3.1.3. Hospedeiro

Dois fatores importantes do hospedeiro que determinam a resistência à cárie dental são a qualidade e o estado do esmalte²¹.

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. A quantidade de fluxo salivar e a composição da saliva compõem os fatores salivares e vão determinar a sua capacidade tampão, com a finalidade de tentar manter estável o pH da cavidade bucal. Uma das funções do fluido é a de diluir as substâncias introduzidas no interior da cavidade oral. Portanto, um alto índice de fluxo salivar resultará em

maior eficiência para remover carboidratos e outras substâncias da cavidade oral²⁷.

Desta maneira, a alteração nas condições da microbiota, da dieta e do hospedeiro, fatores essenciais para o desenvolvimento da cárie, pode ser tanto isolada, como concomitante, dependendo da gravidade das condições encontradas.

3.2 Cárie Experimental em Ratos

O rato vem sendo utilizado como modelo de estudo para verificar a cariogenicidade de vários componentes nutricionais e diferentes tipos de dietas, para verificar microrganismos relacionados à cárie e a eficácia de diversos agentes cariogênicos²⁰.

A complexidade das interações bactéria-dieta-hospedeiro na cárie dentária em adultos, levou pesquisadores a procurar modelos animais, nos quais lesões cariosas pudessem ser estudadas sob condições mais controladas. Pequenos primatas foram os primeiros animais que mostraram o desenvolvimento de lesões cariosas. Entretanto, o custo e a falta de disponibilidade de um número significativo destes animais impossibilitaram a utilização dos mesmos como modelo de laboratório. Algumas linhagens de ratos e hamsters mostraram o desenvolvimento de lesões cariosas ao serem alimentados com uma dieta rica em sacarose. Outras espécies, como o camundongo, desenvolviam menos lesões cariosas quando submetidas a um regime alimentar similar. Estas considerações levaram ao uso generalizado de ratos e hamsters para experiências de cárie dentária²⁸.

Nas décadas de 20 e 30, muitos estudos nutricionais foram realizados em roedores. Coincidentemente, nestes estudos descobriu-se que o rato de laboratório poderia desenvolver cárie dentária. Subseqüentemente, ratos e hamsters, mas não camundongos, mostraram desenvolver cáries extensas quando submetidos a uma dieta rica em sacarose. Estes estudos abriram um grande

campo para pesquisa da cárie dentária, uma vez que estes animais poderiam ser produzidos e mantidos a baixo custo²⁸.

A morfologia dos molares de um rato ou hamster é diferente da morfologia humana. Os molares dos ratos são atravessados por fissuras profundas e têm uma camada fina de esmalte, que não cobre as pontas das cúspides. No momento da erupção dentária, esta camada de esmalte ainda está hipomineralizada, especialmente na base e nas laterais das fissuras. Este fenômeno associado com a propensão das fissuras mais profundas de acumular mais resíduos alimentares, predispõe o rato ao desenvolvimento da cárie de fissura²⁸.

Em seres humanos, a microbiota bacteriana oral é diferente da intestinal. O mesmo não se verifica em roedores, uma vez que estes são coprófagos. Roedores normalmente reciclam diariamente até 35% das fezes, devido a traços evolutivos adquiridos, que os supre com nutrientes essenciais derivados do metabolismo microbiano intestinal. Esta comunicação resulta numa similaridade na composição das microbiotas oral e intestinal²⁸.

A maioria dos animais de laboratório é alimentada *ad libitum* (sem intervalos determinados) com uma dieta homogênea que pode conter até 70% de sacarose. Situação análoga dificilmente é encontrada em humanos. Dietas ricas em sacarose predispõem o animal a um padrão de ingestão freqüente que, como é conhecido pelos estudos de Vipeholm em seres humanos, induz a formação de cárie. A sacarose como um composto de baixo peso molecular, retém mais água para a hidratação de sua superfície, do que uma quantidade equivalente de amido. Devido a este fato, o estômago dos animais é preenchido mais rapidamente com uma dieta rica em sacarose do que com uma dieta à base de amido, fazendo com que o animal pare de se alimentar. A retenção de caloria a cada ingestão alimentar é menor, portanto, o animal é levado a se alimentar mais freqüentemente, o que aumenta a disponibilidade de tempo da sacarose, para a fermentação microbiana no biofilme.

A relação entre a frequência de ingestão e o desenvolvimento de cárie pode ser claramente demonstrado em modelos animais. Stephan mostrou que animais alimentados com uma dieta à base de sacarose *ad libitum* desenvolveram lesões cariosas em números significativamente maiores do que animais alimentados com a mesma dieta, porém em intervalos de tempo determinados²⁸.

Há uma correlação positiva entre o aumento da frequência da dieta e aumento da incidência de cárie. Mais lesões de fissura ocorrem no grupo alimentado com frequência máxima (34 vezes por dia) quando comparado ao grupo de baixa frequência de alimentação (17 a 26 vezes por dia) provavelmente porque aumentando a frequência também aumenta o tempo total de formação de ácido pelas bactérias cariogênicas. Alimentando os animais com uma frequência de 24 a 30 vezes por dia, resulta na mesma quantidade de cárie de fissura quando comparada a alimentação *ad libitum*²⁹.

Sabe-se atualmente que um número de diferentes microrganismos induz cárie em animais de laboratório apropriados, e que alguns são seletivos em diferentes áreas da dentição. Linhagens de *S. mutans* parecem ser os mais versáteis dos organismos cariogênicos, tendo sido experimentalmente demonstrado que são iniciadores de cárie em sulcos e fissuras, superfícies vestibulares e linguais das faces lisas, áreas proximais e mesmo em superfícies radiculares. O *S. mutans* também induz ou aumenta a atividade de cárie em todos os tipos de roedores ou primatas, em estudos experimentais³⁰.

³¹. Uma dieta rica em sacarose transforma a microbiota oral indígena, aumentando particularmente *Actinomyces naeslundii* e *Streptococcus rattus*, ocasionando um aumento do índice de cárie dental no rato³².

3.3 Métodos de Prevenção de cárie

Todas as formas de prevenção de cárie visam aumentar a resistência do esmalte dental à ação dos ácidos produzidos pelos microrganismos do biofilme ou diminuir o poder patogênico deste mesmo biofilme, pela diminuição do biofilme bacteriano ou da quantidade de microrganismos desta, ou ainda evitando a presença prolongada e freqüente de substratos cariogênicos, no caso mais específico, a sacarose, que possam ser degradados em ácidos pelas bactérias do biofilme.

Dentre os procedimentos mecânicos do tratamento preventivo, os pacientes são instruídos a escovar os dentes e a utilizar o fio dental escrupulosamente, observando-se um esquema de aplicação diária para que ocorra diminuição do poder patogênico do biofilme ou mínima concentração de bactérias nas superfícies dentárias. O conceito de remoção do biofilme bacteriano pela escovação dentária é bem conhecido pelo público por meio da propaganda de produtos comerciais de higiene oral³³.

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 reduz a rápida progressão da cárie e o declínio mundial da manifestação desta patologia tem sido atribuído ao uso abrangente de uma ou mais formas de utilização deste produto¹⁴.

Durante muito tempo, o enfoque preventivo foi à composição química do esmalte, em razão de ser esta a estrutura dental que primeiro se expõe na cavidade bucal, ficando sujeita às variações do meio ambiente. Tanto o esmalte e a dentina são compostos de minerais a base de apatita (sais contendo cálcio e fosfato), os quais são extremamente dinâmicos, quer seja quando do desenvolvimento dental como após a erupção. Assim, durante muito tempo o conceito que persistiu foi à estratégia de tentar melhorar a estrutura cristalina dos dentes para torná-los mais resistentes

aos desafios do meio ambiente e, por conseguinte, à cárie dental. Durante a mineralização dos dentes, duas substâncias, flúor e carbonato, entram naturalmente na estrutura dental. Tais substâncias, por suas propriedades antagônicas, ainda despertam a atenção dos pesquisadores na tentativa de tornar o dente mais resistente à cárie dental.

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 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 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 pH inferior a 5,5, a consequência será a dissolução do esmalte⁴¹.

Por muito tempo predominou o conceito de que o flúor se incorporando ao dente formaria fluorapatita (FA) a qual, sendo menos solúvel que a hidroxiapatita (HA), não só explicaria a menor ocorrência de cárie quando da ingestão de água fluoretada, como também justificaria o uso do flúor sistêmico. Na realidade quando se ingere flúor durante a formação dos dentes, incorpora-se uma quantidade de flúor correspondente a apenas 10% de substituição de hidroxiapatita por fluorapatita. Essa concentração de flúor não torna o esmalte mais resistente aos ácidos produzidos pelas bactérias, pois para ficar menos solúvel seriam necessários 30.000 ppm de flúor⁵.

Após aplicação tópica de produtos fluoretados, ocorrem dois efeitos: o primeiro é a

formação de fluoreto de cálcio, que é o principal produto formado de tais aplicações e que participará de maneira a auxiliar a remineralização do elemento dental durante os ciclos de DES-RE^{34, 35}. O segundo efeito é o efeito terapêutico, que se baseia na formação da fluorapatita, firmemente aderida à superfície do elemento dental, tornando-a mais resistente ao ataque cariogênico³⁶.

Pode-se resumir o mecanismo de ação do flúor nos dentes da seguinte forma: os fluoretos reduzem a solubilidade do esmalte e dentina em meio ácido. O íon flúor poderá substituir o íon hidroxila (OH⁻) na hidroxiapatita, e esta reação diminui a sua solubilidade; o flúor aumenta a tendência de remineralização das lesões cariosas incipientes em esmalte e dentina. Isto porque em uma mesma concentração de Ca e P e num mesmo pH, a presença de fluoretos aumenta a tendência de precipitação do fosfato de cálcio na superfície dentária; o flúor diminui a tensão superficial do dente e, conseqüentemente, a capacidade de adesão dos microrganismos ao dente; estudos *in vitro* mostram que possui efeito antienzimático e antimicrobiano e em altas concentrações efeito bactericida. Assim, a capacidade do biofilme bacteriano para produzir ácido pode ser reduzida e a produção de polissacarídeos extracelulares pode ser inibida e o efeito dos fluoretos depende do sal utilizado (fluoreto estanhoso tem maior efeito bactericida do que o fluoreto de sódio), concentração da solução, pH da solução, duração e freqüência da sua aplicação³⁷.

O flúor age diminuindo o pH em que ocorrem as primeiras descalcificações. Na presença do flúor, o pH para que ocorra a desmineralização do esmalte diminui de 5,5 para 4,5. Portanto na presença de flúor ocorre menor perda mineral, pois como o pH necessário para iniciar a perda dos minerais é menor, há um maior intervalo de tempo para que o efeito tampão da saliva ocorra e o pH volte as condições favoráveis³⁸.

Na fase de remineralização do ciclo DES-RE ocorre uma reestruturação dos cristais de

hidroxiapatita com o flúor presente no meio bucal, favorecendo o revestimento dos cristais de apatita com flúor. Estes então começam a ter um comportamento de fluorapatita. O flúor presente na saliva também atua perturbando a colonização bacteriana, seu crescimento a fermentação de hidratos de carbono. Em pH baixo os íons flúor do fluido da placa, atuam no sentido de impedir uma diminuição posterior neste pH³⁸.

O flúor não é capaz de interferir nos fatores responsáveis pela doença, isto é, a formação de biofilme e a transformação de açúcares em ácido. Isto mostra a importância do controle de biofilme e/ou dieta para que um efeito máximo seja obtido.

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 bucal³⁹.

3.3.1 Flúor Sistêmico

A utilização do flúor sistêmico foi por muito tempo considerado como o método ideal de prevenção, porém, este conceito foi substituído pelo fato de que atualmente sabe-se que as aplicações tópicas de flúor são, sem dúvida alguma, a forma mais importante do uso desse elemento na prevenção de cárie³⁸.

Existem diversos meios de utilização de flúor sistêmico, e sua indicação deveria se diferenciar em termos de importância quanto a saúde coletiva ou uso individual⁵. 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 horas⁴⁰.

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 atribuídas à não manutenção da placa dental e a conseqüente não manutenção dos processos de DES-RE⁴¹.

A fluoretação das águas de abastecimento público é o método sistêmico mais utilizado e também o mais eficaz na prevenção da cárie dental. Atinge grande parte da população, promovendo uma efetiva redução na incidência de cárie em populações de diferentes níveis sócio econômicos, independentemente da cooperação e interesse do mesmos³.

Em populações em que a higiene oral é precária e em que outros métodos de prevenção são de difícil acesso, a utilização da fluoretação artificial das águas pode ser de grande benefício. No entanto, o risco de fluorose, toxicidade do flúor decorrente do nível de flúor circulante no organismo, afetando o esmalte em formação em diversos graus de severidade, deve ser levado em consideração quando esse flúor é incorporado ao dente em idades precoces⁴².

Pesquisas mostram que a prevalência de cárie dental no Brasil era muito mais alta antes da fluoretação da água, e decresceu atingindo índices moderados no início da década de 90. Isso mostra a eficiência do método que, isoladamente, reduziu em 50% a prevalência de cárie. Por outro lado é possível constatar que após 1990, a redução foi mais rápida, atingindo em 1995 valores de prevalência de cárie dental (CPOD) similares aos encontrados nos países desenvolvidos⁴³.

Vários estudos avaliaram os efeitos da descontinuidade da fluoretação da água de abastecimento, e em todos eles houve um aumento no índice de cárie quando da interrupção da fluoretação da água. Depois, quando se voltou ao nível de fluoretação anterior, houve novamente uma redução no índice de cárie⁴⁴.

A água fluoretada permite o contato tópico com o dente erupcionado, conforme passa pela cavidade bucal e contato sistêmico com os dentes não erupcionados, conforme é absorvida e entra na circulação. Apesar de já haver comunidades que tiveram sua água de abastecimento fluoretada há 50 anos, a importância relativa destes modos de ação tópico e sistêmico e os mecanismos envolvidos ainda não estão totalmente esclarecidos. Quando se iniciou a fluoretação da água de abastecimento, a maioria dos cientistas acreditava que a atividade anticárie do flúor era resultado principalmente da sua incorporação aos cristais de apatita do esmalte em desenvolvimento, aumentando a estabilidade e diminuindo a solubilidade da estrutura da apatita. Entretanto, a correlação entre a concentração de F no esmalte e a experiência de cárie era inconsistente, e então se passou a dar ênfase não mais à criação de altos níveis de F no esmalte sadio (efeito sistêmico), mas a presença de baixas concentrações de F no ambiente bucal (efeito tópico) e ao papel do F na remineralização. Os dados tanto de estudos clínicos iniciais, quanto recentes acerca da fluoretação da água e outros métodos sistêmicos, suportam a visão de um efeito tanto pré quanto pós-eruptivo do flúor na incidência de cárie⁴⁴.

Existem outras formas de utilização de flúor sistêmico, tais como fluoretação do sal de cozinha, suplemento pré-natal e suplemento pós-natal, no entanto são métodos de difícil controle e que não apresentam segurança para sua prescrição.

3.3.2 Flúor tópico

O interesse da profissão odontológica pela aplicação tópica de flúor data do início da década de 40, após a demonstração de que a exposição de dentes extraídos, por apenas alguns segundos, a soluções diluídas do íon fluoreto provocava uma ligação completa do íon à superfície do esmalte, o qual tornava-se menos solúvel do que o original. Reconheceu-se neste fato um novo fenômeno, completamente diferente da deposição sistêmica de fluoretos durante a mineralização original dos dentes^{30, 45}.

Recentemente tem se destacado a importância da presença constante de baixos níveis de F na cavidade oral, a fim de se inibir a desmineralização e promover a remineralização da estrutura dentária, pois a presença de F no ambiente em que se está desenvolvendo o desafio cariogênico (produção de ácidos), promoveria a precipitação dos minerais recém liberados da estrutura dentária. Assim este mecanismo de ação do F seria mais importante que a incorporação do mesmo a estrutura dentária através de sua administração sistêmica⁴⁴.

O processo de maturação do esmalte dental é o processo onde elementos como carbonato de cálcio são dissolvidos e liberados para o meio bucal e são retidos elementos com grande afinidade com a apatita, como por exemplo, o íon F. O flúor usado topicamente na superfície do esmalte dental, durante este período, favorece a formação de fluoreto de cálcio (CaF₂), que é o principal produto da reação do flúor com a apatita, que se precipita na forma de glóbulos. Logo após, ocorre à deposição de cálcio e fósforo da saliva sobre a superfície deste precipitado formando uma camada protetora de fosfato que reveste o fluoreto de cálcio e diminui sua solubilidade no meio bucal⁴⁶.

Este fato cria um reservatório de flúor, regulado pelo pH, que liberaria o fluoreto em pH baixo, mas que o retém sobre o esmalte durante a absorção de fosfatos em condições de pH

favorável⁴⁷.

Moreno apresentou a seguinte subdivisão para os agentes fluoretados tópicos³⁹:

- Agentes de alta concentração de flúor: são aplicados pelo cirurgião dentista. Sua concentração, geralmente, está na faixa de 12000 ppmF (soluções de flúor fosfato acidulado e fluoreto de sódio), 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.

Dos meios de usar flúor tópico, o que melhor se enquadra em termos do controle da cárie como doença é o dentifrício fluoretado. Assim ao mesmo tempo em que a placa dental é desorganizada periodicamente pelo ato da escovação, o flúor é utilizado de forma regular, constante. Por outro lado existem outras formas de usar flúor tópico tais como; soluções para bochecho, aplicações tópicas profissionais, materiais liberadores de flúor.

As soluções para bochecho são um meio de usar flúor que foi extremamente relevante até pouco tempo, antes do impacto do uso do dentifrício no controle da cárie. Sua indicação no presente é muito mais individual, em termos de risco e atividade de cárie. Também pode, ainda, ser importante em termos coletivos, considerando a prevalência de cárie dental da população, ou de grupos desta, epidemiologicamente vulneráveis, dependendo da análise de cada situação concreta. A aplicação tópica de flúor profissional é uma alternativa do profissional tentar compensar o não

auto-uso de flúor, ou deficiência de medidas preventivas, pelo paciente. Neste contexto, ela é extremamente apropriada em termos de atenção de acordo com as necessidades. Isto seria aplicável do ponto de vista do indivíduo em termos de indicadores de risco ou atividade de cárie, ou no campo coletivo quando a prevalência de cárie na população foi reduzida mas grupos ainda continuam apresentando alta atividade de cárie⁵.

Os tratamentos tópicos de uma maneira geral são efetivos na prevenção da cárie dental. Após uma aplicação tópica de FFA, há uma ligeira dissolução da superfície do esmalte, concomitante com a precipitação de produtos de reação contendo flúor. O principal produto de formação seria o CaF_2 , que se deposita na superfície do esmalte. O flúor também pode ser retido de forma mais permanente, na forma de apatita fluoretada, sendo esta uma forma mais estável no meio bucal. Um aumento da quantidade de apatita fluoretada poderia ter um efeito marcante na solubilidade dos cristais de apatita, enquanto que a quantidade de CaF_2 formada, seria importante por liberar íons flúor, produzindo efeito antimicrobiano, e por servir como reservatório de flúor, que poderia ser redepositado em áreas desmineralizadas, promovendo reprecipitação de estruturas estáveis de apatita⁴⁸.

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 esmalte⁴⁴.

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 repetidas¹⁸.

As buscas por novas técnicas para otimização da aplicação de flúor como método preventivo e pelo modo de que seu efeito na prevenção da cárie dental seja aumentado, continuam presentes nas pesquisas atuais.

O *laser* vem sendo utilizado como auxiliar em procedimentos preventivos que visam a promoção da saúde bucal. Esta tecnologia é cada vez mais utilizada como coadjuvante na maioria dos procedimentos, objetivando o conforto, bem estar dos pacientes e a qualidade nos atendimentos odontológicos.

3.4 Lasers em Prevenção de Cárie

A utilização dos *lasers* nas estruturas dentais vem sendo investigada há tempos, porém, somente em 1964 Stern e Sognaes demonstraram que o esmalte dental poderia ter sua resistência aumentada à ação de ácidos desmineralizantes quando irradiado com um *laser* de Rubi⁴⁹.

Desde de que Stern e Sognaes em 1965 demonstraram que a radiação *laser* aumenta a resistência do esmalte dental a ácidos⁵⁰, muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando vários tipos de *laser* na prevenção da cárie dental, sendo os mais utilizados o Nd:YAG, Hólmio, Argônio, CO₂ e mais recentemente, o érbio e o diodo.

Estudos demonstram que a irradiação do esmalte dental com estes tipos de *laser*, leva a uma fusão e a uma recristalização deste esmalte irradiado^{37, 51}. Outros estudos demonstraram que estes *lasers* associados ao flúor leva à uma maior resistência do esmalte ao desafio cariogênico^{15,16,17, 52,53,54,55}.

Os *lasers* de baixa potência surgem como uma alternativa promissora na odontologia sendo utilizados para promover aumento da atividade celular e analgesia utilizados, por exemplo, no tratamento de aftas, herpes labial, hipersensibilidade dentinária, sensibilidade pós-preparo cavitário, pós-cirurgias e pós-intervenções endodônticas⁵⁶. Esses *lasers* são utilizados com propósitos terapêuticos, mostrando bons resultados, principalmente, em cicatrização de feridas e alívio de dor.

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 ratos⁵⁷. 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-los⁵⁸.

Enquanto que a maioria das aplicações do *laser* em baixa intensidade na Odontologia é direcionada a tecidos moles, como foi citado anteriormente, pelo fato deste tipo de *laser* não causar danos ao tecido dental e ser um aparelho de baixo custo, nos anos recentes tem aumentado o interesse em relação a sua utilização em tecidos duros especialmente na prevenção da cárie dental. 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. Os *lasers* mais estudados para tal procedimento são os *lasers* de Hélio e Neônio (HeNe) e Arseneto de Gálio e Alumínio (AsGaAl).

Em 1989, Fagnoni *et al.* descreveram uma técnica para incorporar o flúor ao esmalte dental de dentes sadios utilizando a iontoforese e um *laser* de baixa potência com emissão no vermelho e

infravermelho. Os autores sugeriram que a técnica utilizada era efetiva para prevenção de cárie pois, após a aplicação, o dente ficaria recoberto por uma camada resistente de fluorapatita e também era um meio de tratamento seguro, simples e econômico⁵⁹.

Andreu *et al.* (1996), desenvolveram um estudo em 112 crianças com idade entre 6 e 7 anos, agrupados segundo a suscetibilidade à cárie. Grupo 1 – crianças não suscetíveis à cárie com índice CPOD = 0, Grupo 2 – crianças suscetíveis à cárie com índice CPOD = 1 ou mais. Em cada criança se realizou um estudo comparativo entre pares de 1º molares onde se investigou a incidência de cárie nos mesmos. Um molar foi irradiado e o outro molar foi tomado como controle. Foi realizada a limpeza do elemento dental com pedra pomez, aplicação de fluoreto de sódio a 2% na superfície oclusal dos molares permanentes e irradiação *laser* na oclusal dos molares selecionados. Foi utilizado um *laser* de Hélio- Neônio com comprimento de onda de 632,8 nm, potência de 2 mW, diâmetro da ponteira de 1 mm e densidade de energia de 6 J/cm². Neste trabalho os autores determinaram que a influência do tratamento com o *laser* de baixa potência associado ao fluoreto de sódio a 2% em molares permanentes leva a uma diminuição da incidência de cárie, principalmente no grupo de crianças susceptíveis a cárie e em nenhum caso foi verificada a presença de cárie somente nos molares irradiados⁶⁰.

Mukashev *et al.* (1991), 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 a associação com o *laser* de He-Ne. O tempo de exposição à radiação foi 60 s por dente, intensidade de 26 mW/cm² e diâmetro de feixe de 10 mm. A duração e frequência do tratamento com o *laser* variaram segundo o

grau de atividade e prognóstico da cárie. 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 *laser* 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 período⁶¹.

Kunin *et al.* (1991), conduziram um estudo com 580 crianças, entre 3 e 6 anos, que apresentavam suscetibilidade à cárie com índice CPOD ≥ 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 4 anos após o tratamento. 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 contribuem para a diminuição dos focos de desmineralização do esmalte e sua estabilização, resultando em dentes mais resistentes à doença cárie⁶².

Kunin *et al.* (1994), realizaram estudos com adultos suscetíveis à carie. Os pacientes foram divididos em 3 grupos: grupo 1 - verniz fluoretado diariamente durante 5 dias; grupo 2 - associação do verniz fluoretado com *laser* infravermelho e grupo 3 - associação do verniz fluoretado com *laser* de He-Ne. Ao final do estudo, os autores observaram que a combinação de compostos remineralizadores, vernizes fluoretados e terapia *laser*, são altamente eficientes na

prevenção e tratamento de lesão de mancha branca, observando que os períodos de tratamento diminuem para esse tipo de lesão quando do uso da associação *laser* e flúor. Não foi observada diferença entre os dois tipos de *laser* utilizados⁶³.

Slujáiev *et al.* (1996), desenvolveram um estudo que teve como objetivo verificar o grau de solubilidade do esmalte dental nos processos de DES-RE sob a influência da irradiação *laser* de HeNe. Foram selecionadas 66 crianças, divididas em três grupos, de acordo com a suscetibilidade à cárie: grupo 1 - crianças sem lesão de cárie ou saudáveis; grupo 2 - crianças com manchas brancas ou lesão inicial e grupo 3 - crianças que apresentavam cárie em quantidade. Os dentes foram irradiados por 90 segundos, com intensidade de 40 mW/cm² durante 7 dias consecutivos. As avaliações foram realizadas antes e depois de cada irradiação, na primeira, terceira, quinta e sétima sessão, por intermédio de biopsia ácida em esmalte. No grupo 1, houve uma redução na solubilidade do esmalte. Nos pacientes que apresentavam manchas brancas foi também observado diminuição na solubilidade, sendo que o processo de resistência do esmalte à solução desmineralizadora ocorreu mais intensamente nestas crianças quando comparadas às 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 esmalte⁶⁴.

Nakasone, R.K. (2004), desenvolveu um estudo *in vivo*, que teve por objetivo avaliar a incorporação de flúor na superfície de esmalte dental após aplicação tópica de FFA associado ou não a um laser em baixa intensidade de emissão vermelha. Foram selecionados 20 incisivos centrais de 10 pacientes, divididos em 4 grupos: G. controle - não recebeu nenhum tipo de tratamento, G. flúor - aplicação tópica de FFA 1,23% durante 4 minutos, G. laser+flúor - irradiação com laser de

diódo em baixa intensidade com comprimento de onda de 660 nm, potência de 30 mW e densidade de energia de $6\text{J}/\text{cm}^2$ e posterior aplicação tópica de FFA e G.flúor+laser - aplicação tópica de FFA e posterior irradiação com laser de diódo em baixa intensidade. A metodologia utilizada para verificação da concentração de flúor foi a biópsia ácida em esmalte. Com os resultados deste estudo, é possível sugerir que a terapia com laser em baixa intensidade de emissão vermelha, antes do FFA, pode aumentar a incorporação de flúor na superfície do esmalte quando comparado aos demais grupos⁶⁵.

Baseando-se nos dados fornecidos pela literatura de que o laser em baixa intensidade, associado ao flúor ou não, pode ser um coadjuvante na prevenção da cárie dental, por ser um tratamento seguro, não provocar danos ao elemento dental e ser um equipamento de baixo custo, o propósito deste estudo foi verificar os efeitos da radiação laser em baixa intensidade, associado ou não ao flúor fosfato acidulado, na prevenção da cárie dental em molares de ratos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Modelo experimental

Para o desenvolvimento deste estudo, foram utilizadas 40 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), fornecidas e mantidas no biotério do IPEN – CNEN/SP. Os animais foram desmamados 18 dias após o nascimento (Figura 4.1.1) e começaram a ser alimentados com uma dieta cariogênica adaptada de Keyes e Jordan⁶⁶, que consistia em 56% de sacarose (açúcar), 28% de leite em pó e 16% de ração para roedores triturada (tabela 4.1.1) e água bi-deionizada *ad libitum*. Após 24 horas do início da dieta, os animais foram inoculados com 0,2 mL de uma suspensão de *S. mutans* (ATCC 1910), cultivado em caldo infuso de cérebro e coração (BHI) por 24 horas, diariamente, diretamente na cavidade oral e 0,2 mL na água por três dias consecutivos⁶⁷. Vinte e quatro horas após a última inoculação, os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos e anestesiados com uma associação de Rompum (Xilazina-0,025 ml/50g) e Ketamina Agener (Ketamina 10%-0,04 ml/50g).

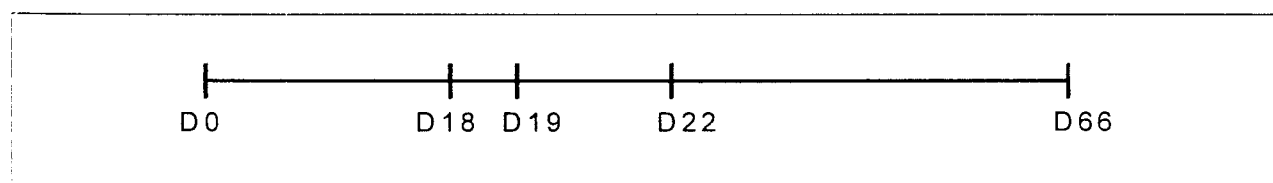


Figura 4.1.1- Agenda do procedimento experimental. D0- nascimento dos animais; D18- desmame e início da dieta cariogênica; D19- início da inoculação do *S. mutans*; D22- tratamento; D66-sacrifício dos animais.

- Grupo G_C – os animais não foram submetidos a nenhum tipo de tratamento.
- Grupo G_L – os molares dos animais foram irradiados com o laser de baixa potência de AsGaAl (Kondortech Equipamentos Odontológicos LTDA, São Carlos, Brasil), $\lambda = 660$ nm, potência de 30 mW, diâmetro do feixe na ponteira de 3mm, densidade de energia de $5\text{J}/\text{cm}^2$, mantido perpendicular à superfície oclusal dos dentes.

- Grupo G_F – os molares dos animais foram submetidos à aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (Flúor Gel Odahcam, Dentsply, Rio de Janeiro, Brasil) com 1,23% de íons de flúor por 4 minutos (especificação do fabricante). O excesso foi removido com algodão.
- Grupo G_{LF} – os molares dos animais foram irradiados com o laser de baixa potência e posteriormente foram submetidos a uma aplicação tópica de flúor fosfato acidulado por 4 minutos.
- Grupo G_{FL} – os molares dos animais foram submetidos à aplicação tópica de flúor fosfato acidulado por 4 minutos e posteriormente foram irradiados com o laser de baixa potência.

Igredientes	Porcentagem (%)
Sacarose (açúcar refinado)	56
Leite em pó	28
Ração para roedores triturada	16

Tabela 4.1.1 Composição da dieta experimental.

Após 45 dias, os animais foram sacrificados em câmara de CO_2 , a mandíbula e a maxila foram assepticamente removidas e dessecadas, os molares foram posteriormente extraídos e preparados para a determinação da área de lesão de cárie, microdureza do esmalte e para a análise da razão de cálcio e fósforo.

Neste estudo foi utilizado um grupo de ratos que não foi submetido ao protocolo de indução de cárie para que fosse possível comparar elementos dentais saudáveis com os elementos dentais cariados.

4.2 Microscopia óptica:

Para a verificação da área de lesão de cárie, setenta e cinco dentes tiveram as raízes isoladas com esmalte vermelho. Após 24 horas de secagem, os dentes foram imersos em azul de metileno a 2% por 2 horas⁶⁸, posteriormente lavados em água corrente e embutidos em resina (figura 4.2.1). As amostras foram hemi-seccionadas no sentido mesio-distal com disco diamantado para possibilitar a visualização da cárie dental. Após o corte, as amostras foram analisadas e fotografadas com uma máquina digital acoplada a um microscópio óptico (Leica DMLP, Alemanha) com aumento de 50 vezes. As imagens foram analisadas através do programa Quantikov⁶⁹ para determinação da área de penetração de corante, verificando assim a área envolvida pela cárie dental em relação a área total da coroa.

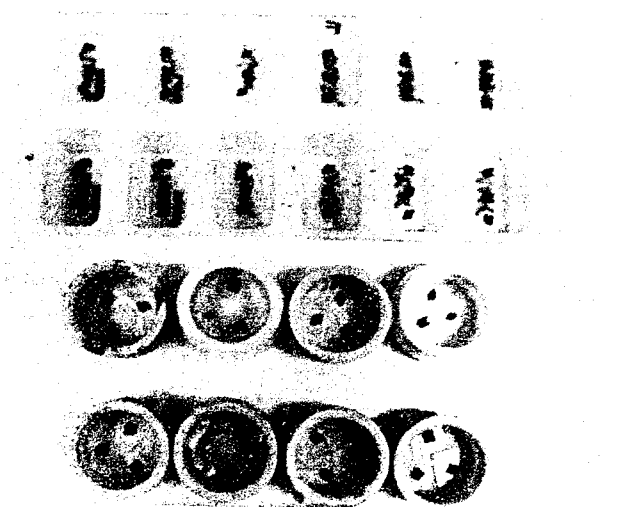


Figura.4.2.1 Inclusão das amostras em resina acrílica.

4.3 Microdureza:

As amostras foram polidas em uma politriz utilizando-se uma série de lixas de Carbetto de Silício de granulações 600, 1200, 1500, 2000 e 4000 por 10 segundos em cada lixa. Posteriormente

foi feito um polimento manual utilizando disco de feltro 8 mm, macio (FELTROS DIAMOND/FGM-produtos odontológicos) associado a uma pasta diamantada para polimento metalográfico ($\frac{1}{4} \mu\text{m}$ – AROTEC) por 20 segundos. Após o polimento, as amostras foram colocadas em ultra-som durante 10 minutos para completa remoção da pasta. Posteriormente as medidas foram realizadas em um microdurômetro (Micro Hardness Tester Shimadzu - HMTV) pertencente ao Departamento de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (figura 4.3.1). Foram realizadas 6 indentações em cada amostra (3 em cada fissura do dente) com uma distancia de $50\mu\text{m}$ entre elas, utilizando uma carga de 25 g por um período de 15 segundos para obtenção da dureza Knoop (KHI).

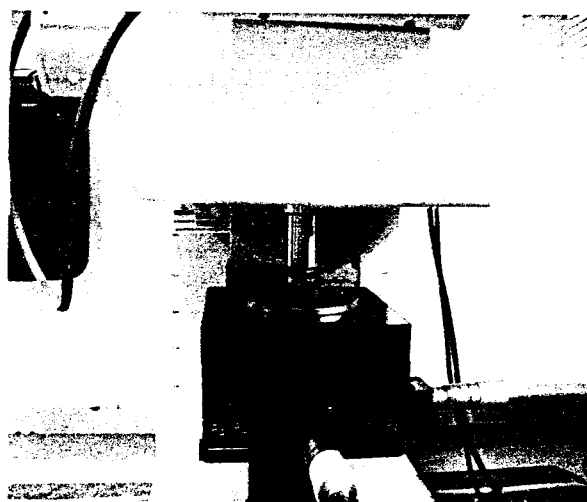


Figura 4.3.1 – Imagem da amostra em posição no microdurômetro.

4.4 EDS:

Para verificação da razão cálcio e fósforo, trinta elementos dentais foram fixados com cola de prata em porta amostras específicos e recobertos com carbono. Posteriormente, as amostras foram analisadas por EDS associado ao Microscópio Eletrônico de Varredura (Phillips XL, Série

30, Eindhoven, Holanda). Foram realizadas cinco medidas na superfície oclusal, nas regiões próximas aos sulcos (figura 4.4.1).



Figura 4.4.1: Elétron-micrografia da superfície oclusal de molar de rato. As setas apontam as regiões próximas ao sulco.

Para investigar a interação do flúor fosfato acidulado utilizado neste estudo, com o laser de emissão vermelha, obteve-se o espectro de absorção de 2 mL de flúor, colocado em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, utilizando-se um espectrofotômetro Varian Cary 17, EUA.

Todos os resultados obtidos neste estudo foram submetidos à análise estatística. O método utilizado foi o teste ANOVA para um fator fixo para mostrar se havia diferença significativa entre os grupos. Para analisar as diferenças entre os grupos, fez-se uma comparação múltipla pelo método de Tukey. Os resultados foram considerados significantes quando $p < 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1. Microscopia óptica

A figuras 5.1.1 e 5.1.2 ilustram a penetração do corante para identificação das lesões de cárie.



Figura 5.1.1: Penetração do azul de metileno na coroa de molar de rato. Grupo controle.



Figura 5.1.2: Penetração do azul de metileno na coroa de molar de rato. Grupo laser+ flúor.

De uma maneira geral, as médias dos grupos G_C e G_L bem como as do grupo G_F e G_{LF} foram próximas entre si, com o grupo G_{LF} apresentando a menor média. As variabilidades dos grupos são parecidas entre si e relativamente altas, com a do grupo G_{LF} aparentemente um pouco menor.

A figura 5.1.3 mostra as médias \pm desvio padrão para a área de lesão de cárie para cada grupo investigado.

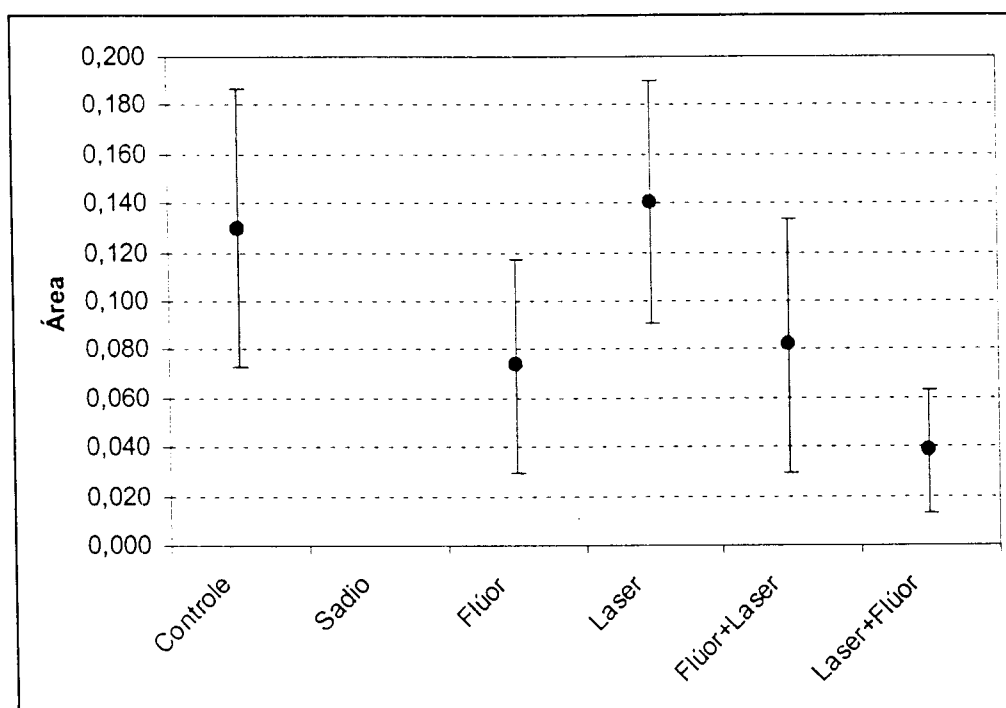


Figura 5.1.3 – Médias \pm desvio padrão para a área de lesão de cárie (cm²) $p < 0,05$.

Fazendo-se a análise inferencial, verificou-se que os dados obedeciam a uma distribuição normal. O teste ANOVA para um fator fixo mostrou que havia diferença significativa entre os grupos. Para analisar as diferenças entre os grupos, fez-se uma comparação múltipla pelo método de Tukey. A tabela 5.1 mostra os níveis descritivos para a comparação pelo método de Tukey com relação às áreas de lesão de cárie. Assim, pode-se afirmar que:

- a média do grupo G_F é significativamente diferente da média do grupo G_C e do grupo G_L ;

- O grupo G_L só não é significativamente diferente do grupo G_C ;
- O grupo G_{LF} é significativamente diferente do grupo G_C e do grupo G_L , mas não é significativamente diferente dos outros dois grupos com flúor.

Grupo	Controle	Flúor	Laser	Flúor+Laser	Laser+Flúor
Controle		0,0184	0,9723	0,0695	0,0001
Flúor	0,0184		0,0036	0,9917	0,3314
Laser	0,9723	0,0036		0,0166	0,0000
Flúor+Laser	0,0695	0,9917	0,0166		0,1624
Laser+Flúor	0,0001	0,3314	0,0000	0,1624	

Tabela 5.1- Níveis descritivos para a comparação pelo método de Tukey com relação às áreas de lesão de cárie. As diferenças significativas estão hachuradas.

5.2 Razão Ca/P

A figura 5.2.1 mostra o padrão espectral medido para os íons Ca e P na superfície oclusal do esmalte de ratos.

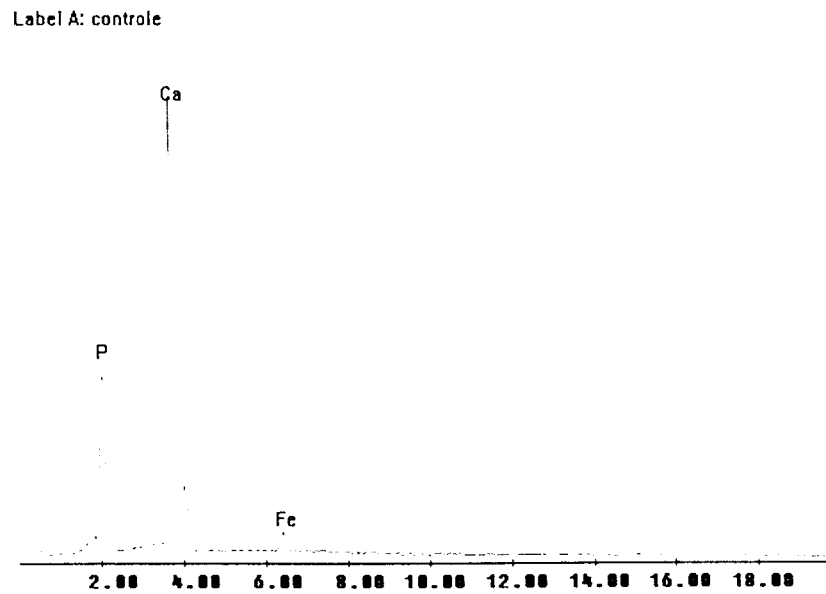


Figura 5.2.1 - padrão espectral medido para os íons Ca e P na superfície oclusal do esmalte de ratos.

Analisando os dados obtidos, observa-se que, no geral, tem-se pouca diferença entre as médias, com o grupo G_C apresentando valores um pouco maiores e o G_L uma média aparentemente menor. Também, as variabilidades dos grupos são relativamente próximas.

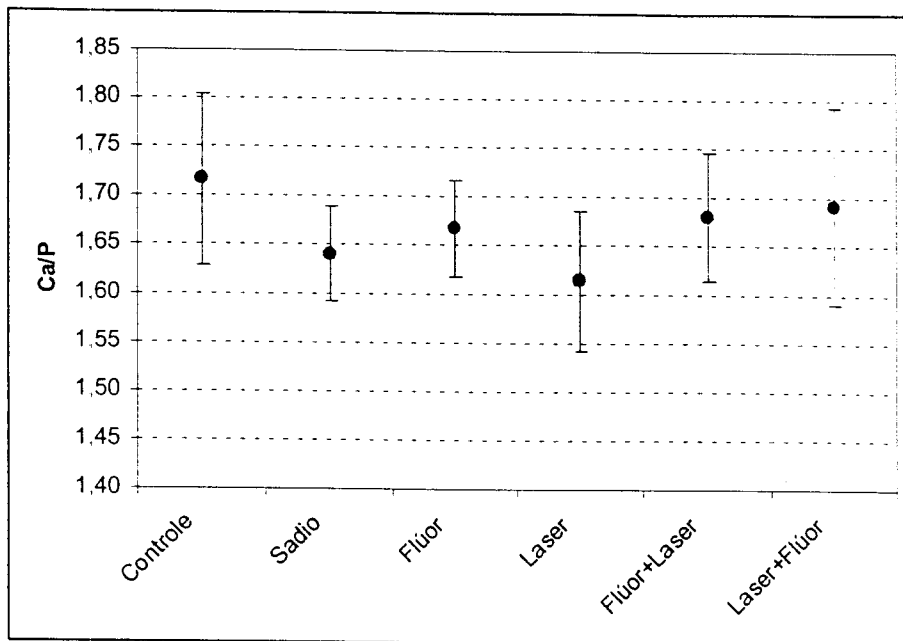


Figura 5.2.2- Médias \pm desvio padrão para a razão Ca/P no esmalte da superfície oclusal de ratos.

Os dados foram analisados pelo teste ANOVA para um fator fixo, já que obedeceram a uma distribuição normal. O nível descritivo obtido foi de 0,256, pelo qual conclui-se que não há diferença significativa entre os grupos.

5.3 Microdureza

A figura 5.3.1. ilustra as indentações em esmalte localizado em fundo de fissura.

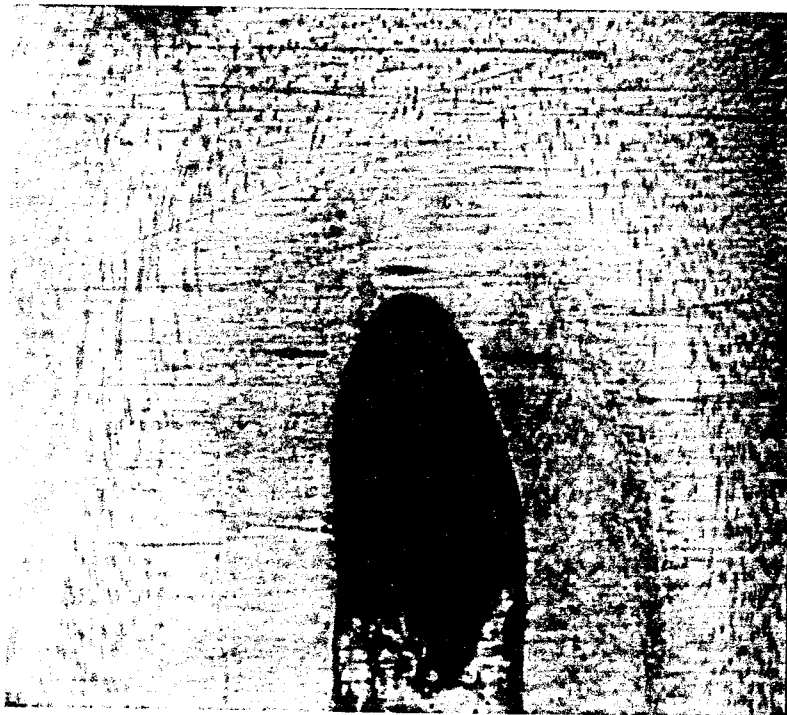


Figura 5.3.1 – Imagem ao microscópio óptico de fissura em molar de rato. As setas indicam as indentações realizadas em esmalte localizado em fundo de fissura.

A figura 5.3.2 mostra as médias dos valores obtidos para microdureza. No geral, observa-se grande diferença entre as médias, com os grupos G_C e G_L apresentando os menores valores e o grupo sadio a maior média. Os outros três grupos ficaram próximos entre si. Aparentemente, as variabilidades dos grupos Sadio e G_{FL} são maiores que as dos demais grupos, sendo o G_C com a menor variabilidade.

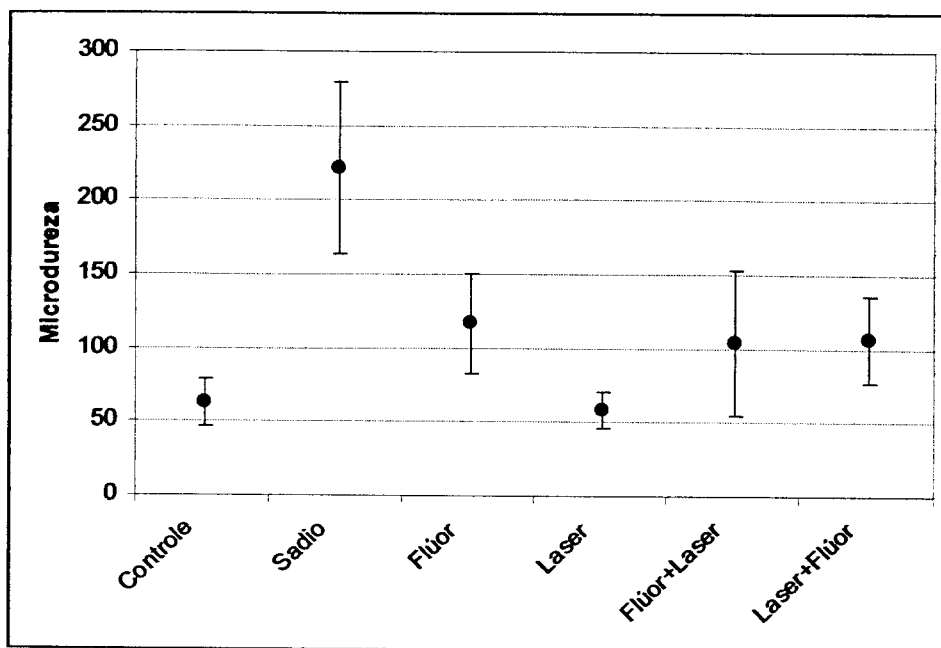


Figura 5.3.2 – Médias \pm Desvio Padrão para Microdureza (KHI) $p < 0.05$.

Fazendo o teste ANOVA para um fator fixo, obteve-se um nível descritivo de 0,000, pelo qual conclui-se que há diferença significativa entre os grupos. Sendo assim, foi feita uma comparação múltipla pelo método de Tukey. Observou-se que a média do valor de microdureza do grupo Sadio é significativamente maior que àquela dos outros grupos. Os grupos G_F , G_{FL} e G_{LF} são iguais entre si e diferentes dos demais grupos. O grupo G_L só não é significativamente diferente do grupo G_C . A tabela 5.3.1 mostra os níveis descritivos obtidos para a microdureza após comparação múltipla pelo método de Tukey.

Grupo	Controle	Sadio	Flúor	Laser	Flúor+Laser	Laser+Flúor
Controle		0,0000	0,0015	0,9929	0,0547	0,0128
Sadio	0,0000		0,0007	0,0000	0,0000	0,0001
Flúor	0,0015	0,0007		0,0002	0,8042	0,9791
Laser	0,9929	0,0000	0,0002		0,0121	0,0024
Flúor+Laser	0,0547	0,0000	0,8042	0,0121		0,9940
Laser+Flúor	0,0128	0,0001	0,9791	0,0024	0,9940	

Tabela 5.3.1: Níveis descritivos para comparações pelo método de Tukey para a microdureza. As diferenças significativas estão hachuradas.

5.4 Espectro de absorção do flúor

A figura 5.4.1 ilustra o espectro de absorção do flúor. É possível observar uma banda de absorção entre 550 e 700 nm.

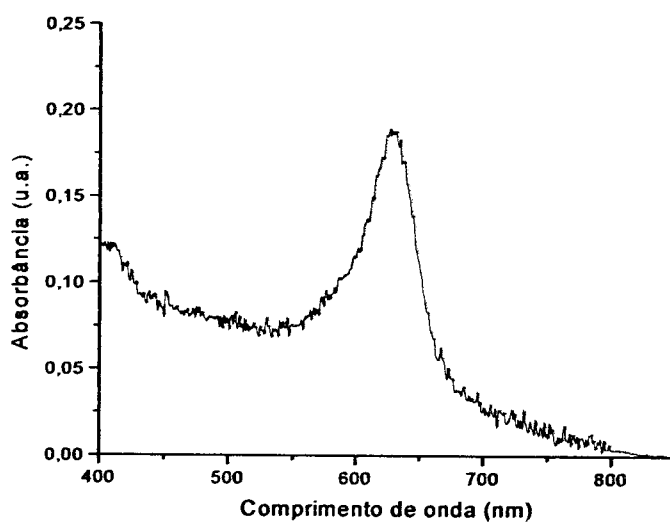


Figura 5.4.1- Espectro de absorção do flúor fosfato acidulado 1,23% (flúor gel Odahcam, Dentsply, sabor *tutti-fruti*, RJ- Brasil)

6. DISCUSSÃO

Apesar do uso freqüente de flúor em pequenas concentrações ser o método mais efetivo para o controle do desenvolvimento da cárie dental, a aplicação profissional de flúor ainda é necessária em algumas situações clínicas, como por exemplo, pacientes com alto risco de cárie. Desde a década de 40, quando o flúor começou a ser utilizado na prevenção da cárie dental, há uma constante busca por métodos que otimizem sua retenção pelo esmalte dental, com melhor custo-benefício.

Este estudo mostra evidências de que o laser de baixa potência com emissão vermelha, nos parâmetros utilizados, associado ao flúor fosfato acidulado (G_{LF}) reduz a área de lesão de cárie em 70% quando comparado ao grupo controle, entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas significantes quando comparado aos grupos G_F e G_{FL} , onde a redução da área de cárie foi de 37% quando comparados ao grupo controle. Com relação à razão Ca/P não houve diferença estatística significativa entre os grupos. Com relação à microdureza, os grupos G_F , G_{LF} e G_{FL} foram iguais entre si, mas significativamente diferente dos grupos G_C e G_L .

Os parâmetros utilizados neste estudo foram estabelecidos baseando-se em dados fornecidos pela literatura onde, a maioria dos trabalhos utilizaram laser com emissão vermelha e densidade de energia entre 1-6 J/cm² ^{59,60,61,62,63,64,65}.

Trabalhos sugerem que o laser em baixa intensidade associado ao flúor ou não, pode aumentar a resistência do esmalte à dissolução ácida dental, além de indicar fixação do flúor ao esmalte dental, embora os mecanismos envolvidos não sejam completamente esclarecidos^{59,60,63}. Utilizou-se a técnica de espectroscopia por energia dispersiva de raios-X associada à microscopia eletrônica de varredura para detectar-se a distribuição de cálcio e fósforo na superfície do esmalte

nos molares dos ratos, já que é bem conhecido que o laser de baixa potência não produz alterações morfológicas superficiais^{70,71}.

Com relação à razão cálcio e fósforo, nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre os grupos estudados. É importante ressaltar, entretanto, que estes dados devem ser interpretados com cautela, já que os cinco pontos selecionados na superfície do molar não retratam o quadro completo da distribuição de cálcio e fósforo no esmalte e a superfície analisada não era plana. Por esta razão, inclusive, optou-se pela análise da razão Ca/P. Provavelmente os resultados obtidos devem-se ao fato de que as medidas foram feitas de forma padronizada na superfície do esmalte, porém, a cárie estava localizada em fundo de fissura. No entanto, estes achados concordam com o trabalho de Slujáiev⁶⁴, onde investigou-se a solubilidade do esmalte através do teor de cálcio e fósforo por biópsia ácida. Os autores obtiveram como resultado que a razão Ca/P na solução biopsiada diminuiu durante os sete dias de tratamento, porém antes e depois da irradiação, em cada sessão, não foram observadas diferenças estatísticas significantes entre os grupos.

A microdureza vem sendo utilizada para o estudo de cáries incipientes sendo possível demonstrar diferenças entre diferentes tipos de tratamento. Ela é aceita para avaliar perda ou ganho mineral pelo esmalte, pois se assume que a microdureza é relacionada à acido-resistência do dente. Há uma relação direta entre o conteúdo mineral da superfície do esmalte e da extensão da indentação^{72,73}.

Neste estudo foram realizados testes preliminares baseados no trabalho de Sasaki⁷⁴ para determinação dos parâmetros a serem utilizados no microdurômetro, já que há dificuldade de indentação em elemento dental de rato, pois o esmalte localizado em fundo de fissura, onde foram realizadas as medidas, é muito irregular apresentando diversas espessuras. Os parâmetros que se mostraram com maior reprodutibilidade foi a carga de 25 g com um tempo de 15 segundos.

Os dados obtidos com a análise da microdureza do esmalte mostraram que não há diferença estatística significativa entre os grupos G_F , G_{FL} e G_{LF} . Este resultado pode ser explicado pelo fato que após uma aplicação tópica de FFA, há uma ligeira dissolução da superfície do esmalte, concomitante à precipitação de produtos da reação do esmalte com os íons F, sendo o principal produto formado o CaF_2 . O flúor pode ser retido de forma mais permanente, na forma de apatita fluoretada, sendo esta forma, uma forma mais estável no meio bucal. Um aumento na quantidade de apatita fluoretada poderia ter um efeito marcante na solubilidade dos cristais de apatita, enquanto que a quantidade de CaF_2 seria importante por liberar íons flúor, produzindo efeito antimicrobiano e por servir como reservatório de flúor, que poderia ser redepositado em áreas desmineralizadas, promovendo reprecipitação de estruturas estáveis de apatita⁴⁸.

Há alguns anos, o laser de baixa potência vem sendo utilizado na prática clínica em países como Rússia, Cuba e Itália, associado ao flúor ou não, como método preventivo da cárie dental^{59, 60, 63, 64, 75}. Entretanto, geralmente são estudos clínicos, onde se avalia a lesão de cárie por métodos visuais subjetivos. Neste estudo, a análise quantitativa dos efeitos da terapia com laser em baixa intensidade na prevenção da cárie dental foram baseados na literatura^{67,76}, onde os autores avaliaram a presença de cárie através da penetração de corantes. Este método é o mais indicado para cárie de fissura, visto que, macroscopicamente, não é possível identificar a profundidade e extensão da lesão⁷⁷.

Os resultados obtidos na microscopia óptica demonstraram que a área de lesão de cárie, diretamente proporcional à penetração do corante, não demonstrou diferença estatística significativa entre os grupos G_F , G_{LF} e G_{LF} , provavelmente devido ao alto desvio padrão, ocasionado pelas próprias diferenças individuais de cada animal, por artefato de técnica ou devido ao número de amostras. No entanto, é possível verificar que o grupo G_{LF} apresentou uma redução da porcentagem

de lesão de cárie de 70% e os grupos G_F e G_{FL} , de 37%, quando comparados ao grupo controle. Entretanto, houve diferença estatística significativa entre estes grupos com os grupos G_L e G_C . Estes resultados concordam com os estudos de Andrew e Kunin^{60,63}, que sugerem benefícios na prevenção da cárie dental utilizando, inclusive, somente o laser de baixa potência.

Neste estudo foram utilizados ratos jovens com os molares em fase de maturação. No dente recém-erupcionado, o esmalte é hipomineralizado, desta forma, o flúor agiria em esmalte com seu mecanismo de ação já bem conhecido. Uma vez que o esmalte é mais poroso, laser + flúor atuariam com maior intensidade em dentina, havendo desta forma uma ação potencializadora no que diz respeito à prevenção da cárie dental, tornando assim o dente menos susceptível à progressão da doença cárie. Logo, pode-se sugerir que a irradiação com o laser de baixa potência de emissão vermelha utilizado anteriormente à aplicação tópica de flúor atue em dentina, possivelmente otimizando a reação que ocorre entre os íons flúor e o fluido dentinário, que leva a uma maior formação de fluoreto de cálcio, que, por sua vez, é depositado nos túbulos dentinários.

Uma outra hipótese seria uma possível ação da radiação laser de emissão vermelha na interface dentina-polpa⁷⁸, prevenindo a progressão da lesão. Trabalhos demonstram que o laser de baixa potência estimula a diferenciação de odontoblastos e formação de dentina secundária, conseqüentemente, ocorrendo a obliteração dos túbulos dentinários^{79,80}. Portanto, uma outra proposição para nossos achados seria a formação de dentina secundária, promovendo a obliteração dos túbulos dentinários, dificultando assim a penetração bacteriana e, portanto, a progressão da cárie dental.

Os melhores resultados encontrados no grupo G_{LF} quando comparado ao grupo G_{FL} podem ser explicados pelo fato do flúor utilizado neste estudo absorver a radiação laser no comprimento de

onda utilizado neste trabalho. Desta forma, a dose necessária em dentina para produzir os efeitos citados anteriormente não foi adequada.

Embora a relação exposição laser-resposta-tecido vivo 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 é basicamente eletromagnética e governada por fótons. Por esta razão, pode-se esperar que a influência eletromagnética como a radiação 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. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho mostraram que:

- o laser em baixa intensidade de emissão vermelha associado ao flúor fosfato acidulado diminuiu a área de lesão de cárie, quando comparado aos grupos G_C , G_L , G_F e G_{FL} , entretanto, não foram observadas diferenças significativas em relação aos grupos em que o flúor foi associado.
- Nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre os grupos estudados com relação à razão de Ca/P.
- Com relação à microdureza, os grupos G_F , G_{FL} e G_{LF} , não diferiram entre si, mas diferiram significativamente dos grupos G_C e G_L .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ NARVAI, P.C.; FRAZÃO, P.; CASTELLANOS, R.A. Declínio na experiência de cárie em dentes permanentes de escolares brasileiros no final do século XX. **Odontol Societ**, v.1, p.25-29, 1999.
- ² LIMA, Y.B.O.; CURY, J.A. Ingestão de flúor por crianças pela água e dentifrício. **Ver Saúde Pública**, v.35, p.576-581, 2001.
- ³ KEYES, P.H. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. **Arch Oral Biol**, v.1, n.4, p.304-320, 1960.
- ⁴ NEWBRUN, E. **Cariologia**, Editora Santos, São Paulo, SP, Brasil, 1988.
- ⁵ CURY, J. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: BARATIERI, L.N. **Odontologia Restauradora – fundamentos e possibilidades**. Editora Santos, São Paulo, Brasil, 2001.
- ⁶ FEATHERSTONE, J.D.B. The science and practice of caries prevention. **JADA**, v.131, p.887-899, 2000.
- ⁷ LEVY, S.M. An update on fluorides and fluorosis. **J Can Dent Assoc.**, v.69, p.286-291, 2003.
- ⁸ GIBBS, M.; RETIE, D.H.; BRADLEY, E.L.; TAYLOR, R.E.; WALKER, A.R. In vivo enamel fluoride uptake from and caries inhibition by topical fluoride agents. **J Dent Res.**, v.60, p.770-775, 1981.
- ⁹ BRUUN, C.; STOLTZE, K. In vivo uptake of fluoride by surface enamel of cleaned and plaque-covered teeth. **Scand J Dent Res.**, v. 84, p.268-275, 1976.
- ¹⁰ MARINHO VC, HOGGINS JP, LOGAN S, SHEIHAM A. Systematic review of controlled trials on the effectiveness of fluoride gels for the prevention of dental caries in children. **J Dent Educ.**, v. 67(4), p.448-458, 2003.
- ¹¹ SHERN, R.J.; DRISCOLL, W.S.; KORTS, D.C. Enamel biopsy results of children receiving fluoride tablets. **JADA**, v.95, p.310-314, 1975.
- ¹² DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W.H.; HAYACIBARA, M.F.; CURY, J.A.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P.L. 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.

¹³ IKENO, K.; IKENO, T.; MIYAZAWA, C. Effects of própolis on dental caries in rats. **Caries Res.**, v. 25, p.347-351, 1995.

¹⁴ EDUARDO, P.L.P. Estudo *in vitro* das alterações morfológicas e químicas do esmalte dental bovino irradiado pelo laser de hólmio. **Dissertação de mestrado**, IPEN-CNEN/SP, Brasil, 2001.

¹⁵ BOARI, H.G.D. Avaliação clinica 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 de mestrado**, IPEN-CNEN/SP, Brasil, 2000.

¹⁶ PELINO, J.L. Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dental humano: análise por microscopia óptica e MEV. **Dissertação de mestrado**, Faculdade de Odontologia, UNESP/SP, Brasil, 1998.

¹⁷ CECCHINI, R.C.; PELINO, J.E.; MELLO, J.B.; CARDOSO, J.B.; SALVADOR, V.I.; EDUARDO, C.P. Acid resistance of enamel treated with Nd:YAG laser associated with fluoride and exposed to a *S. mutans culture* media. **In: Proc. of 6th International Congress of Lasers in Dentistry**, p.53-57, 1998.

¹⁸ THYLSTRUP, A.; E FEJERSKOV, O. **Cariologia Clinica - 3º EDIÇÃO** – Editora Santos, 2001.

¹⁹ MARSH, P.D. Host defenses and microbial homeostasis: role of microbial interactions. **J.Dent Res.**, v. 68, p.1567-75, 1989.

²⁰ LOESHE, W.J. Dental decay and periodontal disease as specific bacterial infections. **In: 20 Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo - Odontopediatria e Prevenção**, v.4, cap.13, Editora Artes médicas – Divisão odontológica, 2002.

²¹ KRASSE, B. Risco de cárie – guia prático para controle e aessoramento. **Quintessence**, Editora Ltda, 1988.

²² KRAMER, P.F.; FELDENS, C.A.; ROMANO,A.R. **Promoção de saúde bucal em odontopediatria**. Editora Artes Médicas, 1997.

- ²³ ELLEN, R.P.; LEPINE, G.;NGHIEM, P.M. In vitro models that support adhesion specificity in biofilmes of oral bacteria. **Adv Dent Res.**, v.11, p.33-42, 1997.
- ²⁴ FERREIRA, M.V.L. Estudo in vitro da fusão da hidroxiapatita e esmalte em superficies de esmalte humano pelo laser de Nd:YAG. **Dissertação de mestrado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.
- ²⁵ GUSTAFSON, B.E. *et al.* The Vipeholm dental caries study. The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years (Sweden), 1954. In: **20º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo - Odontopediatria e Prevenção**, v.4, 2002.
- ²⁶ CURY J. A. *et al.* Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. **Caries Res.**, v.34, n.6, p.491-497, nov./dec. 2000.
- ²⁷ TENOVUO, J.; LAGERLÖF, F. Saliva. In THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clinica**. 2 ed. Livraria Editora Santos. 1995.
- ²⁸ LOESHE, W.J. Modelo animal de cárie dentária. In: **Cárie Dental – uma infecção tratável**. Cultura Médica, Rio de Janeiro, Brasil, p.82-102, 1993.
- ²⁹ KÖNIG, K.G.; SCHMID, P & SCHMID, R. An apparatus for frequency-controlled feeding of small rodents and its use in dental caries experiments. **Archs Oral Biol**, v.13, p. 13-26, 1968.
- ³⁰ MENAKER, L. **Cáries dentárias – Bases Biológicas**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, 1984.
- ³¹ SHAW, J.H. A summary of the relationship of dietary carbohydrates to experimental dental caries, 1981. In: Pekkala, E. Sucrose load, calcium-deficiency and dental caries on molars of growing rats. **Tese de mestrado**, Universidade de Oulu, Finlândia, 2003.
- ³² Zhu, H.; Willcox, M.D.; Green, R.M. & Knox, K.W. (1997) In: Pekkala, E. Sucrose load, calcium-deficiency and dental caries on molars of growing rats. **Tese de mestrado**, Universidade de Oulu, Finlândia, 2003.
- ³³ LOESHE, W.J.D. **Cárie: uma infecção tratável**. Editora Cultura Médica, 1993.

- ³⁴ CRUZ, R.A. Considerações clínicas laboratoriais sobre a reatividade dos compostos fluoretados aplicados topicamente no esmalte dental humano. In: KRIGER, L. et al. **ABOPREV – promoção de saúde bucal**, São Paulo – Artes Médicas Ltda, 1997.
- ³⁵ HELLWIG, E.; LENNON, Á.M. Systemic versus topical fluoride. **Caries Res.**, v.38, p.258-262, 2004.
- ³⁶ CRUZ, R.A.; RÖLLA, G.A. A importância do fluoreto de cálcio como reservatório de flúor na superfície do esmalte dentário. **Rev. Odontol. USP**, v.5, n.2, p.134-139, 1991.
- ³⁷ CECHINI, R.C.M. Estudo in vitro do efeito do laser de Nd:YAG em esmalte dental: análise de fluorescência de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. **Dissertação de mestrado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, Brasil, 1997.
- ³⁸ LARSEN, M.J.; BRUN, C. A química da cárie dentária e o flúor – mecanismo de ação. In THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**. 2 ed. Livraria Editora Santos. 1995.
- ³⁹ MORENO, E.C. Role of Ca-P-f in caries prevention: Chemical aspects. Apud BUZALAF M. **Bioquímica do flúor. Manual didático**, Bauru, 1996.
- ⁴⁰ STORINO, S.P. **Princípios de Cariologia**, Editora de Publicações Médicas Ltda, 1988.
- ⁴¹ CURY, J. Uso do flúor. In Baratieri LN. **Procedimentos Preventivos e Restauradores**, Editora Santos, cap.2, p. 43-67, 1989.
- ⁴² GUEDES PINTO, A. C. **Odontopediatria clínica**. Editora Artes Médicas. Série EAP.; APCD, v.2, 1998.
- ⁴³ CARVALHO, A. S. & CURY, J.A. Fluoride release from dental materials in different solutions. **Operative dentistry**, v.24 (1), p. 14-19, jan./feb., 1999.
- ⁴⁴ BUZALAF, M. **Bioquímica do flúor: manual didático**, Bauru, 1996.
- ⁴⁵ ROBINSON, C.; CONNELL, S.; KIRKHAM, J.; BROOKES, S.J.; SHORE, R.C.; SMITH, A.M. The effect of fluoride on the developing tooth. **Caries Res.**, v.38, p. 268-276, 2004.

- ⁴⁶ RÖLLA, G.; SAXEGAARD, E. Critical evolution of composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluorides in the caries inhibition. **J Dent Res.**, v.69, (Spec. Iss.) p. 780-785, feb. 1990.
- ⁴⁷ RÖLLA, G. On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. **Acta Odont Scand.**, v.46, n. 3, p. 341-345, may 1988.
- ⁴⁸ SERRA, M.C.; SARTINI FILHO, R.; CURY, J. A. **Revista Brasileira de Odontologia**, v.46, p.18-22, 1989.
- ⁴⁹ 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. Abstract of papers. Los Angeles. **J. Dent. Res.**, v. 43, p. 873, 1964.
- ⁵⁰ SOGNAES, R. F.; STERN, R.H. Laser effect on resistance of human dental enamel to demineralization in vitro. **J.South Calif.State Dent Assoc.**, v.33, n.8, p. 328-329, aug.1965 *apud* EDUARDO, P.L.P. Estudo in vitro das alterações morfológicas e químicas do esmalte dental bovino irradiado pelo laser de hólmio. **Dissertação de mestrado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2001.
- ⁵¹ MYAKI, S.I. Efeitos da irradiação da luz laser Nd:YAG nos sulcos e fissuras de pré-molares humanos: estudo in vitro, empregando o MEV,1996 *apud* EDUARDO, P.L.P. Estudo in vitro das alterações morfológicas e químicas do esmalte dental bovino irradiado pelo laser de hólmio. **Dissertação de mestrado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2001.
- ⁵² HOSSAIN, M.M.I.; HOSSAIN, M.; KIMURA, Y.; KINOSHITA, J.; SUZUKI, N.; MATSUMOTO, K. Caries-preventive effect of CO₂ laser irradiation with diamine silver fluoride solution. **J.Oral Laser Applications – ESOLA**, v. 1, n.1, p.13-18, 2001.
- ⁵³ ZECELL, D.M.; BOARI, H.G.D.; EDUARDO,C.P. Nd:YAG Laser in caries prevention: a clinical study. In: **1st Congress Of The European Society For Oral Laser Applications**, 01, 2001, Vienna. Abstracts...Vienna: ESOLA, p.16, 2001.

-
- ⁵⁴ BLANKENAU, R.J.; POWELL, L.; ELLIS, R.W.; WESTERMAN, G. H. In vivo caries-like lesion prevention with Argon laser: pilot study. **J. Clin. Laser Med & Surg.**, v. 17:6, p. 241-243, 1999.
- ⁵⁵ FRIED, D.; FEATHERSTONE, D. B.; SISURI, S.R.; SEKA, W.W.; WALSH, J.T. The caries inhibition potencial of Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation. **SPIE Proceedings of Lasers in Dentistry II**, v. 2672, p.73-77, 1996.
- ⁵⁶ EDUARDO, C.P.; CECCHINI, S.M.C.; CECCHINI, R.C.; ZECELL, D.M. Os beneficios do laser ao C.D. – uma nova realidade. **Jornal da APCD**, p.25-25, 1995.
- ⁵⁷ 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. **Dissertação de doutorado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.
- ⁵⁸ RIBEIRO, M.S. Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele. **Tese de doutorado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.
- ⁵⁹ FAGNONI, V.; SAPINO, S.; ZULIAN, P.; IEMMA, D. Ionofluor + laser = prevenzione. **Minerva Stomatol.**, v. 38, p. 769-772, 1989.
- ⁶⁰ ANDREU, M.I.G.; ZALDIVAR, C.V.; DBEN, A.G. Influencia de la radiación láser de baja potencia em molares permanente inmaduros. **Ver Cubana Estomatol.**, v. 33, p. 1-4, 1996.
- ⁶¹ MUKASHEV, T.K. 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.
- ⁶² KUNIN, A.; KHARIN, O.V. 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.
- ⁶³ KUNIN, A.A.; DERGUNOVA, E.I.; KAZMINA, S. Laser methods of caries prophylaxis. *Progress in biomedical optics*. **SPIE**, v.2630, p.94-103, 1994.

- ⁶⁴ SLUJÁIEV, I.F.; KUSAKOVA, G.M. 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.
- ⁶⁵ NAKASONE, R.K. Avaliação dos efeitos da radiação laser de emissão vermelha em baixa intensidade na incorporação de flúor no esmalte, estudo clinico. **Dissertação de mestrado profissionalizante Lasers em Odontologia.** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2004.
- ⁶⁶ KEYES, P.H.; JORDAN, H.V. Periodontal lesions in the syrian hamster – III – findings related to an infectious and transmissible component. **Arch Oral Biol.**, v.9, p. 377-400, 1964.
- ⁶⁷ KAMP, E.M.; DROST, J.; VELD, J.H.J.H.; HELDERMAN, W.H.P.; Dirks, O.B. Reproducibility of dental caries in Balb/c mice induced by the bacterium *streptococcus mutans*. **Arcs Oral Biol.**, v.28, p.153-158, 1983.
- ⁶⁸ PIVA, E.; MEINHARDT, L.; DEMARCO F.F.; POWERS, J.M. Dyes for caries detection: influence on composite and compomer microleakage. **Clin Oral Invest.**, v.6, p.244-248, 2002.
- ⁶⁹ PINTO, L.C.M. Quantikov. **Tese de Doutorado**, IPEN-CNEN/SP, 1996.
- ⁷⁰ MAHONEY, E.K.; ROHANIZADEH, R.; ISMAIL, F.S.M.; KILPATRICK, N.M.; SWAIN, M.V. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. **Biomaterials**, v.25, p. 5091-5100, 2004.
- ⁷¹ VAN RENSBURG, S.D.J.; WILTSHIRE, W.A. The effect of soft laser irradiation on fluoride release of two fluoride containing orthodontic bonding materials. **J Dental Assoc South Africa**, v.49, p. 127-131, 1994.
- ⁷² FEATHERSTONE, J.D.B.; TENN CATE, J.M.; SHARIATI. M. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.**, v.17, p. 385-391, 1983.

- ⁷³ ARENDS. J.; SCHUTHOF, J.; JONGEBLOED. W,G. Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. **Caries Res.**, v.14, p. 190-195, 1980.
- ⁷⁴ SASSAKI, K. T.; DELBEM, A. C. B.; SANTOS, O. A. M. *et al.* Alterações neuroendócrinas interferem com a mineralização do esmalte, a erupção dentária e a saliva em ratos. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v..17, p.5-10, 2003.
- ⁷⁵ PALANO, D.; MAIOLANI S.; GALLI E.; RINALDI R.; MOLINARI, G. Possibilita e limiti della fluoroprofilassi tópica mediante laser IR 904 nm. **Min Stomatol.**, v.37, p. 97-106, 1988.
- ⁷⁶ MIGUEL, J.C.; BOWEN, W.H.; PEARSON, S.K. Effects of iron salts in sucrose on dental caries and plaque in rats. **Archs Oral Biol.**, v.42, p. 377-383, 1997.
- ⁷⁷ PINHEIRO, J.T.; COUTO, G.B.L.; VASCONCELOS, M.M.V.B.; MELO, M.M.D.C.; GUEDES, R.C.A.; CORDEIRO, M.A.C. Effect of a Brazilian regional diet on the prevalence of caries in rats. **Braz Journal**, v. 35, p. 823-826, 2002.
- ⁷⁸ GODOY, B.M. Efeitos da radiação laser de GaAlAs ($\lambda=660\text{nm}$) em baixa intensidade na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I. **Dissertação de mestrado profissionalizante Lasers em Odontologia**. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2003.
- ⁷⁹ PASCHOUD, Y.; HOLZ, J. Effet du soft-laser sur la néoformation d'un pont dentinaire après coiffage pulpaire direct de dents humaines à l'hydroxyde de calcium. **Revue mens Suisse Odonto – stomatologie**, v. 98, p.345-356, 1988.
- ⁸⁰ MATSUMOTO, K.; FUNAI, H.; WAKABAYASHI, H.; OYOAMA, T. Study on the treatment of hypersensitive dentine by GaAlAs laser diode. **Japanese Journal of Conservative Dentistry**, v.28,p.766, 1985.



M23042



Ministério
da Ciência
e Tecnologia



Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Diretoria de Ensino & Informação Científica e Tecnológica
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3816 - 9148
SÃO PAULO - São Paulo - Brasil
<http://www.ipen.br>

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