



BR0645210

BR0645210



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

503

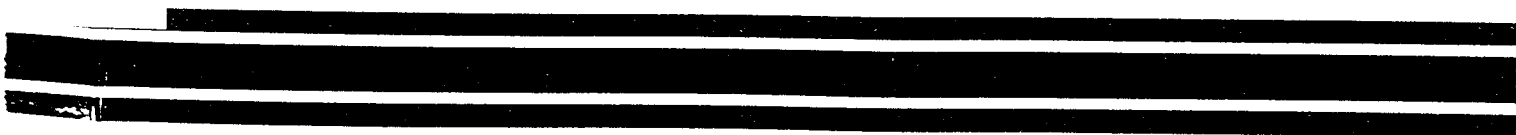
**ESTUDO *IN VITRO* DOS EFEITOS PROMOVIDOS PELO
LASER DE DIODO EM 960 nm NO ESMALTE DENTAL
HUMANO: ANÁLISE DE TEMPERATURA, ANÁLISE
MORFOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA
À DESMINERALIZAÇÃO**

ILKA TIEMY KATO

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

Orientador:
Dr. Niklaus Ursus Wetter

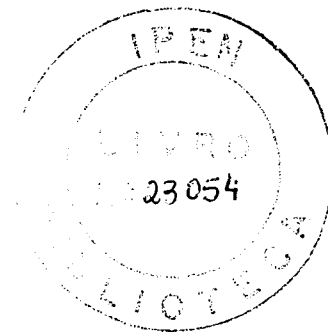
**São Paulo
2004**



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

**ESTUDO *IN VITRO* DOS EFEITOS PROMOVIDOS PELO LASER DE DIODO EM
960 nm NO ESMALTE DENTAL HUMANO: ANÁLISE DE TEMPERATURA,
ANÁLISE MORFOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À
DESMINERALIZAÇÃO**

ILKA TIEMY KATO



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

Orientador: Niklaus Ursus Wetter

SÃO PAULO
2004

DEDICATÓRIA

À minha **família** (meu pai **Sezo**, minha mãe **Regina**, minhas irmãs **Flávia** e **Renata** e minha avó **Sadae**)

POR SEREM A BASE DA MINHA VIDA.

Pelo amor, pelo incentivo, pela paciência e pelo apoio dado a mim... sempre.

Obrigada por me ajudarem a conquistar essa vitória.

Ao meu namorado **Fábio**

Meu amigo, meu companheiro e meu amor.

Pela história que estamos construindo juntos.

Por me amar e me fazer feliz.

Muito obrigada.

Aos meus cunhadinhos, **Danilo e Rafael**

Por contribuírem para a felicidade da minha família.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Niklaus Ursus Wetter**, por acreditar em mim e me aceitar como orientada, pelos ensinamentos, incentivo e apoio nesses anos de convívio.

Ao **Prof. Dr. Edgar Yuji Tanji**, por ter sido meu mestre e meu amigo, por ter me guiado e me conduzido na área acadêmica desde a graduação.

AGRADECIMENTOS

Ao colega e amigo Eduardo Kohara por estar presente durante toda a fase experimental, pelos conselhos e idéias que foram fundamentais para a execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Denise Maria Zzell, pelos conselhos e críticas, pela colaboração na parte experimental e no desenvolvimento deste estudo, especialmente pela realização do ensaio de termografia.

Ao Prof. Dr. Jorge Sarkis, por ter colaborado na definição da técnica analítica utilizada e por ter permitido a utilização do espectrômetro de emissão atômica.

Ao Prof. Dr. Nilson Vieira por conceder acesso às instalações e aos equipamentos do CLA.

Ao Marcos, Elisa, Miho, Ana Paula, Maurício e João pelos esclarecimentos, pelas idéias, pelo apoio e pela colaboração na parte experimental.

Ao Alder pela realização das análises ao espectrômetro de emissão atômica.

Ao Nildemar, René e Celso pela realização dos experimentos ao microscópio eletrônico de varredura.

À Sarita (Marinha) pelas análises ao EDS.

Ao Prof. Dr. Silvio Issão Myaki, professor da disciplina de odontopediatria da UNESP, pelos pensamentos.

À Profã. Martha Simões Ribeiro, pelos conselhos e pelo incentivo.

Ao Valter, Andréa e Luciano pelos valiosos esclarecimentos.

Ao Prof. Dr. Armando Mirage pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao MSc Anderson Zanardi, pelo auxílio dado diversas vezes.

À Profã. Sônia pelos conselhos dados no início do curso.

À Profã. Martha Marques Vieira pelos esclarecimentos e conselhos para a elaboração do projeto.

À Solange, pela colaboração na parte experimental.

À Aninha e Luciana, pelo auxílio nos créditos cursados.

Ao Luís, pelo auxílio na parte experimental e pelo empréstimo dos equipamentos.

À Elza, Tito, Isabel pela paciência e orientações dadas diversas vezes.

À Ilze, Vera, Aninha, Fernando, Paulo pela valiosa ajuda em todos os momentos do curso.

Aos colegas do laboratório, Paulo, Valder, Alessandro e Fabíola pelo convívio, pelo apoio e pela ajuda com os equipamentos do laboratório.

Aos colegas e amigos do CLA, Aécio, Dani, Claudia, Patrícia, Karin, Ricardo, Adriana, Cassius, Renata .

Às minhas amigas e aos meus amigos Paulinha, Erika, Lai, Lídia, Evelyn, Débora, Paula, Marcos, Hideo, Jack, Tony, Tizuya.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Aos técnicos e funcionário do CLA.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram por pensamentos ou atos para a realização deste trabalho.

..

**ESTUDO *IN VITRO* DOS EFEITOS PROMOVIDOS PELO LASER DE DIODO EM
960 nm NO ESMALTE DENTAL HUMANO: ANÁLISE DE TEMPERATURA,
ANÁLISE MORFOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À
DESMINERALIZAÇÃO**

Ilka Tiemy Kato

RESUMO

O objetivo deste estudo é determinar os efeitos da irradiação com o laser de diodo na desmineralização do esmalte dental. Para alcançar o objetivo proposto foram determinados o absorvedor a ser utilizado com o laser de diodo, os parâmetros seguros e o sistema adequado para medição de temperatura. Após a determinação destas condições, foram avaliados os efeitos do laser de diodo e do flúor fosfato acidulado na desmineralização do esmalte dental por meio de análise da concentração de cálcio pelo espectrômetro de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES). Na primeira etapa experimental foram analisadas cinco misturas constituídas de pó de carvão vegetal diluído em cinco diferentes veículos e o carvão diluído em solução fisiológica foi escolhido para ser utilizado como absorvedor. Nesta etapa também foram avaliadas metodologias de aferição de temperatura no interior da câmara pulpar e a massa de modelar foi escolhida como meio de manutenção do elemento dentário à temperatura corpórea. Na segunda etapa, diferentes densidades de energia (1,8 J/cm², 3,7 J/cm², 5,6 J/cm², 7,4 J/cm² e 9,3 J/cm²), tempos de irradiação (10, 15, 20, 25 e 30 segundos) e intervalos de tempo entre a aplicação do absorvedor e do laser (5, 30, 60, 90 e 120 segundos) foram avaliados em relação às alterações de temperatura. As alterações morfológicas na superfície de esmalte foram analisadas por meio da microscopia eletrônica de varredura. Setenta e cinco amostras de esmalte, divididas em cinco grupos (controle, flúor, laser, laser + flúor e flúor + laser), foram utilizadas para a análise de resistência à desmineralização. O teor de cálcio perdido durante a desmineralização em ácido láctico foi mensurado pelo ICP-AES. Pelos resultados observados neste experimento verificou-se que a irradiação de amostras de esmalte com o laser de diodo (960 nm), nas condições usadas, não aumentou a resistência à desmineralização. Quando associado ao flúor fosfato acidulado, a resistência não diferiu do resultado obtido apenas com o flúor.

**EFFECTS OF 960 nm DIODE LASER IRRADIATION ON DENTAL ENAMEL IN
VITRO: TEMPERATURE AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS AND
EVALUATION OF ENAMEL DEMINERALIZATION.**

Ilka Tiemy Kato

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the effects of diode laser irradiation on enamel demineralization. To achieve this goal appropriate photon absorbing substances for the laser radiation, safe laser parameters and adequate temperature measuring apparatus had to be determined. Next, the effects of diode laser and acidulated phosphate fluoride on enamel demineralization by calcium content analysis were evaluated with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). In the first part of the study, five dyes consisting of vegetable coal diluted in five different liquids were analyzed and vegetable coal diluted in physiological solution was chosen for use as absorber. Methodologies to measure pulp chamber temperature were evaluated and modeling clay was chosen as fixture for the enamel samples held at body temperature. In the second part of the study, different energy density parameters (1.8 J/cm^2 , 3.7 J/cm^2 , 5.6 J/cm^2 , 7.4 J/cm^2 and 9.3 J/cm^2), exposure times (10, 15, 20, 25 e 30 seconds) and time intervals between dye application and laser irradiation (5, 30, 60, 90 e 120 seconds) were evaluated with respect to temperature changes in the pulp chamber. The enamel morphology was analyzed by scanning electron microscopy. Acid resistance was measured using seventy five enamel specimens, divided in five groups (control, fluoride, laser, laser + fluoride and fluoride + laser). The amount of calcium lost during demineralization in lactic acid was measured by ICP-AES. The results obtained in this experiment permit the conclusion that diode laser irradiation did not increase acid resistance. When associated with fluoride, the acid resistance did not differ from the results obtained with fluoride alone.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
3 REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1 Cárie dental	20
3.2 Flúor.....	22
3.3 Efeitos da luz laser sobre a polpa.....	25
3.4 Medição de temperatura no interior da câmara pulpar	28
3.5 Lasers em prevenção de cárie	30
3.6 Laser de diodo em Odontologia	36
3.7 Microscopia eletrônica de varredura	39
3.8 Espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES)	41
4 ETAPAS EXPERIMENTAIS	44
4.1 Etapa 1 -- Determinação da substância absorvedora e da metodologia de aferição de temperatura	44
4.1.1 Materiais e métodos	44
4.1.2 Resultados	51
4.1.3 Discussão	53
4.1.4 Conclusões	57
4.2 Etapa 2 - Determinação dos parâmetros e avaliação da resistência ácida	58
4.2.1 Materiais e métodos	58
4.2.2 Resultados	66
4.2.3 Discussão	76
4.2.4 Conclusões	84
ANEXO A - Aprovação do comitê de ética em pesquisa do IPEN	85

ANEXO B – Avaliação de temperatura no interior da câmara pulpar durante irradiação com o laser de diodo e absorvedor composto de carvão vegetal e etanol 50%	86
ANEXO C - Ensaio no espectrômetro de energia dispersiva de raio-x	89
ANEXO D - Ensaio de medição de temperatura na superfície de esmalte por meio de uma câmara termográfica	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição dos três sistemas usados para a mensuração das alterações de temperatura na câmara pulpar.	48
TABELA 2 - Características observadas em cada mistura e na camada obtida após a aplicação sobre a superfície dental.	51
TABELA 3 - Médias dos aumentos de temperatura e desvios padrão de cada sistema.	52
TABELA 4 - Condições de irradiação.	60
TABELA 5 - Divisão dos espécimes em grupos e tratamento das amostras.	62
TABELA 6 - Médias dos aumentos de temperatura medidos na câmara pulpar em cada parâmetro de irradiação.....	66
TABELA 7 - Médias dos aumentos de temperatura registrados em cada duração de exposição do laser.	72
TABELA 8 - Alterações de temperatura registradas em cada irradiação.	73
TABELA 9 - Médias e desvios padrão dos valores de cálcio mensurados nas amostras de ácido láctico e porcentagem de redução na perda mineral em relação ao controle. Os grupos que apresentam símbolos diferentes (* ou **) apresentaram diferença estatística.	74
TABELA 10 - Parâmetros de irradiação.	86
TABELA 11 - Médias dos valores de porcentagem em peso para cada elemento e cada grupo.	90
TABELA 12 - Médias dos valores de contagem líquida para cada elemento e cada grupo.	91

TABELA 13 - Aumento de temperatura máximo registrado na superfície do esmalte em cada irradiação..... 94

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Diagrama com componentes do MEV.	40
FIGURA 2 - Representação esquemática dos sinais gerados pela interação de um feixe de elétrons com uma amostra.	41
FIGURA 3 - Átomo no estado excitado (a) e emissão de radiação eletromagnética (b).	42
FIGURA 4 - Configuração da tocha do ICP-AES.	43
FIGURA 5 - Preparação da amostra para inserção do termopar e posicionamento da fibra durante a irradiação.....	46
FIGURA 6 - Protótipo de laser de diodo de 960 nm.....	47
FIGURA 7 - Ilustração do equipamento utilizado no banho térmico.	48
FIGURA 8 - Ilustração dos equipamentos utilizados para manutenção da temperatura do elemento dental a 36 °C no conjunto composto pela massa de modelar.	49
FIGURA 9 - Equipamentos de registro de dados do conjunto composto pelo <i>lock-in</i>	49
FIGURA 10 - Ilustração dos equipamentos de registro de dados utilizados no conjunto composto pelo osciloscópio.	50
FIGURA 11 - Gráfico das médias das alterações de temperatura medidas e dos desvios padrão, em função do tempo, nos sistemas água e osciloscópio (AO), água e lock-in (AL) e massa e osciloscópio (MO).	52

FIGURA 12 - Circulador de água com temperatura controlável utilizado para manutenção dos recipientes contendo as amostras e a solução de ácido láctico a 37 °C.	64
FIGURA 13 - Aparelho de ICP-AES.	65
FIGURA 14 - Curva analítica obtida a partir dos quatro padrões de cálcio. Os símbolos (■) correspondem aos padrões	65
FIGURA 15 - Médias das alterações de temperatura em função do tempo em cada parâmetro de irradiação (diferenciados pelos símbolos). Cada média corresponde a 512 medidas registradas pelo osciloscópio.	66
FIGURA 16 - Elétron-micrografia da amostra controle.....	67
FIGURA 17 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 1 (1,8 J/cm ² por pulso).	68
FIGURA 18 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 2 (3,7 J/cm ² por pulso). Setas indicam áreas de esfoliação do tecido dental.	68
FIGURA 19 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 3 (5,6 J/cm ² por pulso).	69
FIGURA 20 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 4 (7,4 J/cm ² por pulso).	69
FIGURA 21 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 5 (9,3 J/cm ² por pulso).	70
FIGURA 22 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 5 (9,3 J/cm ² por pulso).	70

FIGURA 23 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 5 ($9,3 \text{ J/cm}^2$ por pulso).	71
FIGURA 24 - Médias das alterações de temperatura mensuradas em função do tempo para cada tempo de exposição do laser (diferenciados pelos símbolos). Cada média corresponde a 503 medidas registradas pelo osciloscópio.	72
FIGURA 25 - Gráfico das alterações de temperatura ocorridas em cada uma das seis irradiações (com intervalos de tempo de 0, 30, 60, 90, 120 e 0 segundos após a aplicação do iniciador de absorção). Cada média corresponde a 503 medidas registradas pelo osciloscópio.	73
FIGURA 26 - Gráfico das médias e desvios padrão da quantidade de cálcio medido em cada grupo.	74
FIGURA 27 - Gráfico das alterações de temperatura em função do tempo observadas em cada irradiação (diferenciados pelos símbolos). Cada média corresponde a 405 medidas registradas pelo osciloscópio.	87
FIGURA 28 - Desenho esquemático das dimensões e da divisão das amostras. Os pontos pretos correspondem ao posicionamento aproximado das áreas de análise ao EDS.	89
FIGURA 29 - Ilustração dos equipamentos utilizados na análise termográfica: câmera termográfica, elemento dental fixado sobre a placa de peltier e fibra do laser de diodo.	93
FIGURA 30 - Imagem registrada pela câmera termográfica no momento em que a temperatura máxima é alcançada na superfície do esmalte.	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag(NH₃)₂F: fluoreto diamínico de prata

CO₂: dióxido de carbono

CO₃²⁻: carbonato

Cr: cromo

Er: érbio

FDA: *Food and Drug Administration*

FOUSP: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

GaAlAs: Arseneto de Gálio Alumínio

Ho: hólmio

ICP-AES: *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry* - Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma de Argônio Induzido

IPEN: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LASER: *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* – Amplificação da luz pela emissão estimulada de radiação

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

Nd: neodímio

OH⁻: hidroxila

pH: potencial Hidrogeniônico

PO₄³⁻: fosfato

S mutans: *Streptococcus mutans*

S sobrinus: *Streptococcus sobrinus*

TEA: *Transversally Excited Atmospheric Pressure*

UK: *United Kingdom*

USA: *United States of America*

YAG: *Yttrium Aluminum Garnet* – granada de ítrio e alumínio

YFL: *Yttrium Lithium Fluoride* – fluoreto de ítrio e lítio

YSGG: *Yttrium Scandium Gallium Garnet* – granada de ítrio, scândio e gálio

%: porcentagem

LISTA DE SÍMBOLOS

nm: nanometro

mm: milímetro

g: grama

μm : micrometro

W: watt

Hz: hertz

J: joule

cm: centímetro

$^{\circ}\text{C}$: graus Celsius ou graus centígrados

cal: calorias

K: kelvin

M: molar

m: metro

V: volt

s: segundo

ms: milisegundo

μs : microsegundo

ml: mililitro

ppm: partes por milhão

mJ: milijoule

kW: kilowatt

mW: miliwatt

μg : micrograma

ng: nanograma

1 INTRODUÇÃO

Nestas últimas décadas a prevenção passou a ser um sinônimo de saúde, bem estar, qualidade de vida, e se tornou um objetivo almejado por todas as áreas profissionais ligadas à promoção de saúde e pela população em geral. Entretanto, para viabilizar esta política de prevenção é necessária a realização de pesquisas que propiciem o conhecimento das doenças e o desenvolvimento de terapêuticas, entre elas as preventivas. Estes avanços vêm sendo alcançados graças à união de diversas áreas profissionais na criação de novos materiais, técnicas e equipamentos a serem empregados.

Neste contexto, a saúde bucal também ganhou importância deixando de ter um enfoque somente curativo e de ser privilégio de poucos. A importância da integridade das estruturas que compõem o sistema mastigatório na execução de funções vitais e o conhecimento das implicações das doenças que atingem a cavidade bucal na saúde geral de um indivíduo aumentam a necessidade de prevenir as afecções que podem acometer este sistema.

A cárie, uma das doenças bucais mais antigas e que provavelmente seja uma das moléstias infecciosas que mais acometa o homem, continua recebendo atenção por parte dos profissionais cirurgiões-dentistas. Diversas técnicas e materiais de uso preventivo foram desenvolvidos e, apesar de promoverem sucesso satisfatório, não possibilitaram ainda o controle total da doença. E por este motivo, novas alternativas continuam sendo buscadas, muitas vezes em associação com outras técnicas, no intuito de alcançar um resultado melhor.

Desde que Sognaes & Stern, em 1965, sugeriram que a luz proveniente de um laser poderia promover um aumento de resistência do esmalte dental à desmineralização, estudos passaram a ser realizados com o objetivo de alcançar a condição ideal de aplicação desta tecnologia. Diversos lasers com comprimentos de onda variando do visível ao infravermelho, como por exemplo, o laser de argônio (Blankenau *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 2000), de CO₂ (Kantorowitz *et al.*, 1998; Featherstone *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2001) e de neodímio (Tagomori & Morioka, 1989; Boari, 2000; Huang *et al.*, 2001) foram e continuam sendo estudados.

Na prevenção de cáries os lasers atuam basicamente por meio do efeito térmico promovendo alterações físicas (Sognaes & Stern, 1965; Sato, 1983; Oho & Morioka, 1990; Tagomori & Iwase, 1995) e químicas no tecido dental (Holcomb & Young, 1980; Fowler & Kuroda, 1986; Featherstone, 2000b). Cada comprimento de onda apresenta um coeficiente de absorção neste tecido (Featherstone, 2000) e por isso as condições de irradiação e os resultados relatados são variados.

O laser de diodo em alta intensidade apresenta-se como uma alternativa de aplicação na Odontologia um pouco mais recente. Suas pesquisas se concentram principalmente em tecidos moles (Coluzzi, 2000; Gohakhay *et al.*, 1999; Yousuf *et al.*, 2000; Romanos & Nentwig, 1999) e redução microbiana (Moritz *et al.*, 1997; Moritz *et al.*, 1998; Yilmaz *et al.*, 2002). Os estudos relatados em tecidos duros, especialmente em esmalte dentário, são poucos provavelmente em virtude das características deste laser (baixa absorção pela hidroxiapatita, tempo de duração do pulso da ordem de milisegundos e valores baixos de potência pico).

Apesar de algumas aplicações da luz laser em odontologia estarem relacionadas a comprimentos de onda específicos, é esperado que um tipo de laser possa ser utilizado no maior número de terapias possíveis e por vários profissionais; características que viabilizam o custo de aquisição do equipamento. Neste contexto, os lasers de diodo apresentam um custo mais baixo, facilidade de aplicação na cavidade oral devido ao sistema de entrega do feixe em fibra ótica e equipamento com dimensões reduzidas tornando-o transportável (Coluzzi, 2000). Estas características favorecem a sua utilização na prática clínica.

Estudos foram realizados por Oliveira *et al.* (2000) e Quinto Jr. (2001) demonstrando as alterações morfológicas no esmalte dental e a aplicação de parâmetros seguros do laser de diodo de 960 nm. Entretanto, na área de prevenção, poucos trabalhos foram realizados utilizando este tipo de laser e neste comprimento de onda especificamente, não foram encontrados relatos na literatura.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo são determinar o absorvedor, os parâmetros seguros de irradiação e a eficácia da irradiação com o laser de diodo em 960 nm na desmineralização do esmalte dental.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Cárie dental

Ao longo dos anos, o conhecimento da doença cárie permitiu que vários modelos descritivos da doença fossem propostos e modificados. Na década de 60 surgiu a teoria de que a cárie está relacionada à interação de três fatores essenciais: o hospedeiro; a microbiota e a dieta (Keyes, 1962). Entretanto observou-se que apenas a existência destes fatores não resultava em perda mineral instantânea e, portanto, um quarto fator representando o tempo foi adicionado neste modelo (Newbrun, 1988). Atualmente o conhecimento sobre a doença cárie permitiu caracterizá-la como uma doença infecciosa e de caráter multifatorial. Estes diversos fatores participantes no desenvolvimento das lesões de cárie são classificados como fatores determinantes, ou seja, fatores que por si só não são capazes de causar a perda mineral, mas podem influenciar o índice de desenvolvimento e progressão da perda mineral (Fejerskov & Thylstrup, 1995b).

Apesar da função essencial dos microorganismos na doença cárie ser conhecida há mais de um século, os estudos realizados durante a década de 50 mostraram que animais com ausência dos germes, mesmo na presença de alto teor de açúcar, não desenvolviam lesões de cárie (Orland *et al.*, 1954) e que estes microorganismos podiam ser transmitidos de animais que apresentavam a doença para animais não infectados (Keyes, 1960). Além de estabelecerem a estreita relação entre os patógenos e a cárie, muitos trabalhos se concentraram na identificação dos principais microrganismos envolvidos. Os dois principais grupos de bactérias que foram associados à formação de lesões de cárie são o grupo dos estreptococos mutans e o dos lactobacilos (Loesche, 1986). No primeiro grupo, duas espécies, *S mutans* e *S sobrinus*, são consideradas as mais importantes. Entretanto, no segundo grupo, algumas espécies foram isoladas, mas não foram identificadas as predominantes no processo da cárie (Bowden & Edwardsson, 1995) e usualmente é citado apenas o grupo.

Além da presença dos microrganismos cariogênicos, para que o processo de cárie se inicie é necessário que ocorra a colonização das superfícies dentais e formação da placa bacteriana. Segundo Nolte (1982), a placa é “o acúmulo microbiano não mineralizado que adere firmemente às superfícies dentárias, restaurações e aparelhos protéticos e apresenta uma organização estrutural composta por uma matriz orgânica proveniente de glicoproteínas salivares e produtos microbianos extracelulares com predominância de formas filamentosas, não podendo ser facilmente removida por bochechos ou *spray* de água”. Entretanto, os microrganismos não entram em contato direto com a superfície do esmalte. A sua adesão à estrutura dental depende da presença da película adquirida, uma camada composta por glicoproteínas salivares, fosfoproteínas, lipídeos e componentes do fluido do sulco gengival que adsorvem a superfície do esmalte poucos minutos após a limpeza mecânica do dente (Simmonds *et al.*, 2000). As bactérias, por meio das adesinas presentes em sua superfície, se ligam à receptores presentes na estrutura da película adquirida (Nyvad & Fejerskov, 1995).

Bowden & Edwardsson (1995) salientaram que a produção de ácidos, em especial o ácido láctico, pelas bactérias acidogênicas da placa bacteriana é um pré-requisito fundamental para o desenvolvimento das lesões de cárie. Estes ácidos são produtos finais do metabolismo de degradação dos carboidratos fermentáveis pelos microrganismos. A sacarose é considerada a principal fonte de energia da microbiota da placa e conforme o nível presente, uma certa quantidade de ácido láctico será produzida alterando o nível de acidez da placa (Carlsson & Hamilton, 1995).

A cárie envolve dois processos independentes: a dissolução dos cristais de apatita do esmalte e a difusão de íons para fora da estrutura do esmalte (desmineralização) após formação de ácidos na placa, e a remineralização dos defeitos produzidos no esmalte com a neutralização do pH (ten Cate & Featherstone, 1991). Quando o pH bucal atinge valores abaixo dos níveis críticos (em torno de 5,3 - 5,5), o fluido da placa apresenta alta concentração de ácidos e subsaturação em relação à apatita do esmalte (Larsen & Bruun, 1995). Os ácidos formados pelo metabolismo bacteriano se difundem no fluido da placa e para dentro das porosidades do esmalte e, à medida que percorrem estas vias de difusão, ocorre a sua dissociação e produção de íons hidrogênio. Estes íons dissolvem rapidamente a porção mineral, provocando a liberação de cálcio e fósforo para a porção aquosa do esmalte que, posteriormente, se difundem para fora da estrutura dental (Featherstone & Rodgers, 1981).

Após este processo, o pH no fluido da placa aumenta, a solução fica supersaturada em relação ao esmalte e o mineral perdido tende a ser redepositado. Entretanto, esta deposição dos íons pode ser parcial, resultando em uma perda mineral no esmalte (Larsen & Bruun, 1995). A repetição destes processos de desmineralização durante a permanência de baixos valores de pH e parcial remineralização com a elevação destes valores, leva à formação de uma lesão cariosa subsuperficial (ten Cate & Featherstone, 1991).

Fejerskov & Thylstrup (1995a) retrata de forma resumida estes conhecimentos relatados na literatura definindo a cárie como “um processo dinâmico que ocorre nos depósitos microbianos (placa dental nas superfícies do dente) e que resulta em distúrbio do equilíbrio entre a substância do dente e o fluido da placa adjacente. Com o decorrer do tempo, o resultado é a perda mineral na superfície do dente”.

3.2 Flúor

A utilização do flúor como método preventivo à cárie é reportado desde a década de quarenta, com a utilização de suplementos na dieta, adição de flúor aos dentífrícios (ten Cate & Featherstone, 1991) e aplicações de agentes tópicos (Bibby, 1944). Nesta época, acreditava-se que o efeito inibidor do flúor era devido à incorporação deste elemento na apatita do esmalte. Entretanto, a partir deste período, muitos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar os mecanismos de ação e a eficácia dos tratamentos e novos conceitos surgiram.

ten Cate & Featherstone (1991), Larsen & Bruun (1995) e Featherstone (2000a) afirmaram que o flúor incorporado durante a formação do dente não exerce um papel significativo na proteção contra a cárie. Segundo estes autores o flúor deve estar presente regularmente para manter uma concentração significativa na saliva e no fluido da placa e promover ação preventiva. Issa *et al.* (2003) demonstraram que lesões de cárie artificiais induzidas em meios contendo flúor apresentam menor profundidade e perda mineral, quando comparadas às lesões induzidas em meio sem flúor.

Larsen & Bruun (1995) relataram que a concentração de flúor é mais alta na superfície do esmalte, quando comparado à subsuperfície, e este elemento pode estar presente na forma de flúor permanentemente ligado, fluorapatita e fluoridroxapatita, e flúor com ligação fraca, fluoreto de cálcio e flúor adsorvido. Segundo os autores, com o pH em valores

críticos, o fluido da placa apresenta-se não saturado em relação à hidroxiapatita e supersaturado em relação à fluorapatita. Esta situação acarreta a dissolução da hidroxiapatita da região subsuperficial do esmalte e a formação de fluorapatita nas camadas superficiais. Este processo pode justificar a ausência de alterações na concentração de flúor no fluido da placa, após a produção de ácidos pela microbiota (Tanaka & Margolis, 1999). Quanto maior o fornecimento de flúor, mais supersaturado estará o fluido da placa, ocorrerá maior deposição de fluorapatita e, conseqüentemente, menos desmineralizada ficará o corpo da lesão subsuperficial (Larsen & Bruun, 1995).

De acordo com Featherstone (2000a,b) a ação do flúor na prevenção de cárie pode ser descrita por três mecanismos principais: inibição do metabolismo bacteriano por meio da difusão de fluoreto de hidrogênio (HF) formado durante a diminuição de pH na placa, para o interior do microrganismo; inibição da desmineralização quando presente nos cristais de apatita ou na solução que permeia os cristais; e favorecimento à remineralização com a formação de compostos que apresentam baixa solubilidade, semelhante à fluorapatita, nos cristais remineralizados. O autor (2000a) relatou que a ação do flúor depende da presença deste elemento nos fluidos, na placa bacteriana e na porção aquosa presente entre os cristais de hidroxiapatita.

Em relação ao uso de agentes tópicos contendo altas concentrações de flúor, diversos trabalhos foram realizados demonstrando o potencial preventivo desta terapêutica.

Os efeitos preventivos do flúor fosfato acidulado, após aplicações semestrais durante dois anos, foram estudados por Hagen & Bowden em 1985. Os resultados mostraram uma redução no índice de CPO-S (superfícies cariadas perdidas e obturadas) equivalente a 30%.

Ripa (1991) observou que a média de redução de cárie reportada na literatura, com a aplicação de flúor fosfato acidulado uma vez por ano é de 23%. Quando a aplicação é realizada duas vezes ao ano, a média de redução aumenta para 33%.

Pinto (1993) avaliou o efeito preventivo promovido pela aplicação tópica semestral de flúor fosfato acidulado em 998 crianças. Após um ano, em locais sem fluoretação da água de abastecimento, houve reduções na incidência de cárie de 31,6% em crianças de 6 anos, 24,9% aos 8 anos e 39,5% aos 10 anos. Em locais com fluoretação da água as reduções foram de 24,3%, 26,6% e 27,7% respectivamente.

O efeito cariostático promovido pelos agentes tópicos contendo altas concentrações de flúor é atribuído à formação de fluoreto de cálcio (Larsen & Bruun, 1995, Zahradnik *et al.*, 1978) e à diminuição da cariogenicidade das bactérias presentes na placa (Wefel & Harless, 1984, Zahradnik *et al.*, 1978). A incorporação de flúor pelo esmalte hígido, após a aplicação tópica, com formação de fluoridroxapatita ou fluorapatita é limitada (Larsen & Bruun, 1995). Cruz *et al.* (1992) observaram que o tratamento com fluoreto de sódio a 2% ou Duraphat por 5 minutos não promoveu a deposição de flúor firmemente ligado em amostras de esmalte.

Larsen & Bruun (1995) e ten Cate & Featherstone (1991) afirmaram que o fluoreto de cálcio (CaF_2) é o principal produto da reação do flúor com a apatita do esmalte dental, quando os tecidos dentários estão expostos a altas concentrações de flúor. Por causa da lenta dissolução e relativa estabilidade na cavidade oral, o fluoreto de cálcio é considerado um reservatório de flúor, que promove a liberação deste elemento na medida em que ocorre a dissolução (ten Cate & Featherstone, 1991). Após a diminuição do pH, os íons flúor e cálcio são liberados para o fluido da placa; ocorre um aumento na concentração destes elementos que levam à inibição da desmineralização (ten Cate & Featherstone, 1991).

Takagi *et al.* (1992) demonstraram que a utilização de monocálcio fosfato monohidratado e hexafluorosilicato (MCPM-SHFS), que contém a mesma quantidade de flúor que o flúor fosfato acidulado (FFA), promove a formação de compostos contendo flúor com ligação fraca em quantidade sete vezes maior que o FFA devido à presença de cálcio em sua composição. Segundo os autores, a incorporação de flúor firmemente ligado ocorre após duas horas de contato do agente tópico e a superfície dentária.

Em 1993, Eronat *et al.* observaram que o Duraphat e o flúor fosfato acidulado promoveram uma maior incorporação de flúor no esmalte dental humano comparado ao flúor neutro e ao Flúor Protector.

Guimarães *et al.* (2000) avaliaram a quantidade de fluoreto de cálcio formado no esmalte bovino tratado com flúor gel neutro, flúor fosfato acidulado e flúor fosfato altamente acidulado, durante 1 ou 4 minutos. Os autores observaram que o tempo de aplicação não influenciou nos resultados obtidos nos grupos tratados com flúor gel de pH baixo; o flúor fosfato acidulado apresentou resultados superiores ao neutro para o mesmo tempo de aplicação

e, quando comparado ao flúor altamente acidulado, não houve diferença estatisticamente significativa.

Zahradnik *et al.* (1978) demonstraram que a desmineralização em amostras de esmalte expostas a culturas bacterianas é menor que nas amostras imersas em soluções ácidas. Os autores observaram que a remoção do fluoreto de cálcio formado após o tratamento com fluoreto de sódio ou flúor fosfato acidulado, levou à perda do efeito preventivo. Baseado nestes resultados foi sugerido que o fluoreto de cálcio interfere em um ou mais processos microbiológicos, como a colonização e o metabolismo glicolítico.

3.3 Efeitos da luz laser sobre a polpa

Os lasers em alta intensidade promovem alterações nos tecidos alvos principalmente pelo efeito térmico produzido pela interação da luz com estes tecidos. Conforme o comprimento de onda e as condições de irradiação estes efeitos podem se estender também aos tecidos adjacentes. Quando aplicado em um elemento dentário, a luz laser pode promover um aquecimento não apenas na superfície, mas também no tecido pulpar. Segundo Zack & Cohen (1965), o aumento de temperatura intrapulpar a partir de 5,5 °C pode levar à necrose deste tecido. Por estes motivos, diversos trabalhos reportados avaliaram os parâmetros seguros de aplicação dos lasers sobre as estruturas dentárias.

Em 1965, Taylor *et al.* realizaram o primeiro estudo dos efeitos da luz laser sobre a polpa do dente. Os autores utilizaram o laser de rubi com duração de pulso de 3 milissegundos e energia de 35 e 55 joules aplicado em molares de hamsters e avaliaram as alterações pulpares após 3 e 7 dias. Com irradiação de 35 joules o tecido pulpar apresentou áreas de inflamação e necrose, e com 55 joules, as polpas apresentaram-se necrosadas.

Adrian *et al.* (1971) avaliaram os efeitos do laser de rubi na polpa dentária de incisivos de cães, utilizando densidades de energia de 1880 a 3330 J/cm² e pulsos com duração de 1,3 milissegundos. Os autores concluíram que a energia necessária para produzir alterações no esmalte poderia causar necrose do tecido pulpar.

Renneboog-Squilbin *et al.* (1989) compararam o aumento de temperatura no interior da câmara pulpar de dentes humanos promovido pela irradiação do laser de argônio, pela imersão em água à 54 a 55 °C e durante o preparo cavitário com ponta diamantada em alta velocidade. O laser de argônio foi utilizado no modo contínuo com potência de 2 W,

tempo de exposição de 1 a 5 segundos e intensidade de 4 kW/cm^2 e o tempo de imersão em água e do preparo cavitário foi de 1 a 2 segundos e 3 a 6 segundos, respectivamente. Os autores observaram que as variações de temperatura registradas durante a irradiação do laser de argônio foram inferiores às geradas pelo contato com a água e semelhantes às aquelas causadas pelas pontas diamantadas.

Paghdiwala *et al.* (1993) estudaram o aumento de temperatura na câmara pulpar, a eficiência de ablação e as alterações estruturais de dentes humanos irradiados com o laser de Er:YAG, em diferentes parâmetros e na presença ou ausência de jato de água. Foram utilizadas potências de 1,1 W, 2,2 W e 3,3 W; taxa de repetição de 6 Hz; densidades de energia de 260 a 790 J/cm^2 ; tempo de exposição de 1, 2 e 3 segundos e diâmetro de feixe de 0,3 mm. Os autores observaram que a irradiação efetuada na presença de água promoveu a formação de cavidades mais profundas, diminuiu a alteração estrutural dos tecidos irradiados e causou alterações menores na temperatura intrapulpar.

Em 1993 Yu *et al.* avaliaram os efeitos do tamanho do feixe, da potência, da densidade de energia e do comprimento de onda dos lasers de CO_2 , Argônio e Nd:YAG, na alteração da temperatura na câmara pulpar de dentes humanos. Os lasers foram utilizados no modo de emissão contínua, com potências de 1 W, 2 W e 4 W, diâmetros de feixe de 1, 4 e 8 mm e o tempo de irradiação foi calculado de modo que resultasse em densidades de energia de 51 J/cm^2 e 102 J/cm^2 . Quando o mesmo valor de densidade de energia foi utilizado, o aumento do diâmetro do feixe causou um aumento da temperatura na irradiação com todos os lasers, e o aumento da potência causou uma elevação na temperatura somente para os laser de Argônio e Nd:YAG. O aumento da densidade de energia provocou uma maior alteração na temperatura quando o tamanho de feixe e potência foi mantido.

O aumento de temperatura promovido por vários lasers de semicondutores emitindo entre 780 nm e 905nm foi investigado por Arrastia *et al.* (1994) em um estudo *in vitro*. Foram utilizados 18 parâmetros com densidade de energia de 1,5 a 2400 J/cm^2 , tempos de exposição de 60, 120 e 180s nos modos de emissão quasi-contínuo (qcw) e contínuo. Os autores observaram que o aumento de temperatura máximo registrado no interior da câmara pulpar foi de $3 \text{ }^\circ\text{C}$.

Zeziel *et al.* (1996) avaliaram o aumento de temperatura promovidas pelo laser de Ho:YFL, no interior de câmaras pulpares vazias ou preenchidas com um material para simular

o tecido pulpar. Os elementos dentários foram irradiados com energia de 500 mJ/pulso, num total de 30 pulsos e densidade de energia de 2,079 J/cm². Nas câmaras pulpares preenchidas foi registrado um aumento de temperatura máximo de 3,8 °C e nas câmaras vazias, o aumento foi de 2 °C.

Quinto Jr. (2001) investigou as alterações morfológicas no esmalte dentário humano e as alterações térmicas no interior da câmara pulpar induzidas pelo laser de diodo de 960 nm. Por meio da análise pela microscopia eletrônica de varredura observou-se que conforme o parâmetro utilizado, diferentes alterações da superfície do esmalte podiam ser induzidas. Pelos resultados obtidos na aferição de temperatura verificou-se que existe uma relação direta entre a taxa de repetição e a alteração da temperatura produzida. O autor concluiu que o laser de diodo pode promover fusão do esmalte sem elevação danosa da temperatura intrapulpar.

Malmstrom *et al.* (2001) avaliaram os efeitos potenciais na estrutura dental causados pelo laser de CO₂ de 10,6 µm, pulsado, utilizado para procedimentos em tecidos moles. As condições de irradiação utilizadas foram: diâmetro do feixe de 0,3 mm, 1,2 a 2,6 J/cm² de fluência por pulso, taxa de repetição de 120 a 1000 Hz, 100 a 200 ms de duração do pulso, tempo de exposição de 0,1 a 1 segundos e fluência cumulativa de 14 a 2200 J/cm². Foram avaliadas a temperatura gerada na câmara pulpar e as alterações morfológicas nas estruturas irradiadas. O aumento de temperatura registrado na irradiação do esmalte, da dentina e do cimento variou de 0,5 °C a 19 °C. Em todas as condições de irradiação foram observadas áreas de fusão da dentina e do esmalte e áreas mensuráveis de perda tecidual nos dois tecidos.

Kreisler *et al.* (2002) investigaram o aumento de temperatura intrapulpar induzido pela irradiação com laser de diodo de 809 nm na superfície radicular. A potência utilizada variou de 0,5 a 2,5 W no modo contínuo, o tempo de irradiação máximo foi de 120 segundos e o diâmetro da fibra foi de 400 µm. As áreas irradiadas apresentavam a espessura de dentina entre a superfície e o conduto radicular de 1, 2 e 3 mm. A alteração da temperatura no conduto radicular variou de 0,5 a 32 °C conforme a potência utilizada, a espessura do tecido e o tempo de exposição. Os autores sugeriram que a irradiação de dentes com espessura mínima de 2 mm deve limitar-se à potência de 1 W com exposição de 10 segundos. Com espessura de dentina menor, a potência deve ser limitada de 0,5 W por 10 segundos.

Srimaneepong *et al.* (2002) compararam o aumento de pressão e temperatura na câmara pulpar durante a remoção de dentina com o laser de Nd:YAG e pontas diamantadas em alta rotação. Antes da irradiação foi aplicada uma camada de uma tinta preta na superfície de dentina e o laser foi aplicado com potências de 1 e 3 W, taxa de repetição de 30 Hz e densidades de energia de 156 e 467 J/cm². Os autores observaram que a maior alteração na temperatura e na pressão ocorreu nas amostras irradiadas com 3 W seguida pela irradiação com 1 W e as pontas diamantadas. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa na temperatura registrada durante a irradiação com 1 W e o uso da ponta diamantada.

Os efeitos dos lasers de Er:YAG e de GaAlAs na superfície radicular e na temperatura intrapulpar foram comparados no estudo realizado por Theodoro *et al.* (2003). O laser de érbio de 2,94 µm foi utilizado com energia por pulso de 100 mJ, taxa de repetição de 10 Hz, fluência de 10 J/cm², tempo de irradiação de 30 segundos e ponta de diâmetro de 1,3 mm em contato com a superfície irradiada. O laser de diodo de 810 nm foi aplicado com potências de 1 W e 1,4 W, fibra de 320 µm de diâmetro e tempo de exposição de 30 segundos. Segundo os valores aferidos na medição de temperatura, o laser de érbio, associado à refrigeração com água, promoveu uma diminuição da temperatura de $2,2 \pm 1,5$ °C e o laser de GaAlAs promoveu um aumento de $1,6 \pm 0,8$ °C e $3,3 \pm 1,0$ °C. Não foram observadas alterações morfológicas nas amostras irradiadas, contudo, nos espécimes tratados com o laser de érbio, verificou-se maior irregularidade na superfície.

3.4 Medição de temperatura no interior da câmara pulpar

A preocupação com as conseqüências que o aumento de temperatura intrapulpar causado por muitos procedimentos odontológicos é uma constante na odontologia. Muitos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar as alterações de temperatura no interior da câmara pulpar durante o preparo cavitário (Renneboog-Squilbin *et al.*, 1989; Paghdiwala *et al.*, 1993; Glockner *et al.*, 1998), o polimento de restaurações (Briseno *et al.*, 1995), a polimerização de resina (Smail *et al.*, 1988), o clareamento dental ativado por luz (Baik *et al.*, 2001), a utilização do laser para prevenção de cárie dental (Powell *et al.*, 1993, Eduardo 2001) e para o tratamento de doença periodontal (Kreisler *et al.*, 2002; Theodoro *et al.*, 2003), entre outros.

O calor gerado no tecido dental é transferido para estruturas adjacentes através da condução de calor. Foi reportado que o aquecimento do elemento dental induz expansão do fluido dentinário e da polpa; alterações que causam um aumento do fluxo para fora dos túbulos e afetam também os vasos sanguíneos presentes no tecido pulpar (Nyborg & Brännström 1968). Além disso, as alterações causadas pelo aumento de temperatura intrapulpar podem levar à necrose da polpa (Zack & Cohen 1965). Por esta razão, estudos foram realizados para estabelecer o limite de temperatura que pode ser induzido na câmara pulpar, sem gerar danos aos seus tecidos (Lisanti & Zander 1952, Zack & Cohen 1965).

O termopar é um instrumento largamente utilizado para avaliar as alterações de temperatura induzidas na câmara pulpar (Smail *et al.*, 1988; Renneboog-Squilbin *et al.*, 1989; Paghdiwala *et al.*, 1993; Yu *et al.*, 1993; Zezell *et al.*, 1996; Chang & Wilder-Smith 1998; Turkmen *et al.*, 2000; Baik *et al.*, 2001; Malmstrom *et al.*, 2001; Cavalcanti *et al.*, 2002; Srimaneepong *et al.*, 2002). Este dispositivo é constituído de dois metais diferentes unidos em uma extremidade que é inserida no interior do elemento dental. A diferença de temperatura entre a junção de aferição e a extremidade conectada ao aparelho de mensuração gera diferença de voltagem termoelétrica. A conversão do sinal elétrica para a temperatura é feita a partir da relação entre cada grau Celsius e o sinal produzido.

Numa situação clínica os elementos dentários estão rodeados por outros tecidos que os mantêm a temperatura corpórea. Trowbridge *et al.* (1980), Hannig & Bott (1999) and White *et al.* (2000) utilizaram o banho térmico para manter os dentes a uma temperatura constante durante o experimento e Lauer *et al.* (1900) escolheram o ágar semisólido 2% embebido em solução fisiológica para o mesmo propósito. Entretanto, alguns estudos são realizados sem a reprodução desta condição, como Renneboog-Squilbin *et al.* (1989), Yu *et al.* (1993) and Chang & Wilder-Smith (1998) que mantiveram os elementos dentais em contato com o ar e Turkmen *et al.* (2000) and Cavalcanti *et al.* (2002) que fixaram os dentes em um material odontológico sem manter o conjunto à temperatura corpórea.

Outro aspecto importante é que a mensuração da temperatura em uma câmara pulpar vazia provavelmente não fornece informações precisas a respeito dos eventos térmicos que ocorreram em uma situação clínica (Chang & Wilder-Smith 1998). Devido a este motivo, o preenchimento da câmara e conduto radicular com tecido pulpar (Chang & Wilder-Smith

1998), pasta térmica (Turkmen *et al.* 2000, Hannig & Bott 1999, Peters & Augsburger 1981) e água (Baik *et al.* 2001) é relatado.

3.5 Lasers em prevenção de cárie

Na área de prevenção, as pesquisas com laser foram iniciadas na década de sessenta quando Sognnaes & Stern (1965) demonstraram que o esmalte irradiado apresentava um aumento na resistência à desmineralização frente a um ambiente ácido, quando comparado ao esmalte não irradiado. Desde então, diversos comprimentos de onda têm sido estudados para esta finalidade.

Nelson *et al.* (1986) relataram que o esmalte irradiado com laser de CO₂ e tratado com solução ácida apresentou lesões 50% menos desmineralizadas que o controle. A profundidade da camada de fusão formada no esmalte foi de 5 µm.

Segundo Bahar & Tagomori (1994) o esmalte dental irradiado com Nd:YAG laser; segundo os parâmetros 0,75 J, 3 ms e 20 Hz; apresenta uma resistência ácida 30% maior que o esmalte dental não irradiado.

Kantorowitz *et al.* (1998) investigaram a influência do número de pulsos utilizados na irradiação com o laser de CO₂ para prevenção de cárie. Os comprimentos de onda 9,6 e 10,6 µm foram utilizados com fluências de 5 e 12 J/cm² respectivamente, e com número total de pulsos de 1, 5, 25 ou 100 pulsos. Pelos resultados obtidos os autores verificaram que a inibição da formação de lesões de cárie variou conforme o número de pulsos e comprimento de onda utilizado.

Os efeitos do laser de CO₂ emitindo em 9,3, 9,6, 10,3 e 10,6 µm na prevenção de cárie foram avaliados em um estudo *in vitro* realizado por Featherstone *et al.* (1998). Amostras de esmalte dentário foram irradiadas com um dos quatro comprimentos de onda utilizados, nas seguintes condições: energia por pulso de 25, 50, 100, 200 ou 250 mJ; total de 25 pulsos; taxa de repetição de 10 Hz e fluências de 1 a 12,5 J/cm². A inibição da progressão das lesões de cárie obtidas pelas diferentes condições de irradiação variou de 40 a 85%. Os autores observaram que o comprimento de onda de 9,3 e 9,6 µm utilizado com fluências de 1 a 3 J/cm² inibiu em 70 % a formação de lesões de cárie. Entretanto, para obter efeitos semelhantes em 10,3 e 10,6 µm foi necessário a utilização de fluências de 10 J/cm² que pode causar efeitos deletérios aos tecidos pulpaes.

Em 1999, Blankenau *et al.* demonstraram *in vivo* a ação do laser de argônio na redução da desmineralização do esmalte. Os autores irradiaram dentes pré-molares com densidade de energia de 12 J/cm^2 por 10 segundos e utilizaram os dentes homólogos como controle. Após cinco semanas de permanência dos elementos dentais com bandas ortodônticas para induzir a retenção de placa, eles foram extraídos e analisados quanto à profundidade das lesões formadas. Pelos resultados obtidos verificou-se uma redução estatisticamente significativa de 29,1% na desmineralização.

Hsu *et al.* (2000) avaliaram os efeitos do laser de CO_2 , utilizado com densidade de energia de $0,3 \text{ J/cm}^2$, na desmineralização do esmalte humano normal e com a matriz orgânica removida. A análise demonstrou que a perda de minerais e a profundidade das lesões de cárie formadas nos espécimes controles normais foram significativamente menores que nas amostras sem a matriz orgânica. A irradiação com o laser de CO_2 promoveu uma redução na perda de minerais e na profundidade das lesões de 98,7 e 93 % respectivamente, quando comparados às amostras controles normais. Entretanto, os efeitos do laser diminuíram para 69,9 e 25 % quando a matriz orgânica foi removida.

Tsai *et al.* (2002) compararam os efeitos da irradiação com dois comprimentos de onda e mesma densidade de energia na desmineralização do esmalte. Foram utilizados os laser de Nd:YAG com 120 mJ de energia por pulso, 50 pulsos por segundo, duração de pulso de 800 μs , diâmetro do feixe de 0,6 mm e tempo de exposição de 0,05 segundos e de CO_2 com comprimento de onda de 10,6 μm , energia de 1,33 mJ por pulso, 750 pulsos por segundo, duração de pulso de 667 μs , diâmetro do feixe de 0,3 mm e tempo de exposição de 0,075 segundos. Antes da irradiação com o laser de neodímio foi aplicada uma camada de absorvedor na superfície da amostra de esmalte. Após 24 horas de permanência na solução ácida, as amostras tratadas pelos dois lasers apresentaram diminuição significativa na profundidade das lesões. Entretanto, apenas as amostras tratadas com o laser de CO_2 perderam menor quantidade de cálcio que o controle. Após 72 horas, nenhuma das amostras irradiadas diferiu do controle.

Apel *et al.* (2003) investigaram a susceptibilidade à desmineralização do esmalte dental após o preparo cavitário realizado pelo laser de érbio. Foram utilizados os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG com energia por pulso de 260 e 305 mJ, densidade de energia de 41 e 104 J/cm^2 e refrigeração com água em quantidade de 74 e 33 ml/min respectivamente, e a taxa

de repetição utilizada foi de 20 Hz para os dois equipamentos. A profundidade da desmineralização nas amostras de esmalte preparadas com os lasers foi estatisticamente maior que nas amostras preparadas com pontas diamantadas. Não houve diferença nos resultados obtidos pelos dois lasers.

Não somente o laser foi estudado para prevenção, mas também a sua associação ao flúor tópico. Goodman & Kaufman (1977) observaram o aumento da incorporação de flúor ao esmalte após irradiação de pó de esmalte com fluoreto de sódio. Os autores demonstraram também que a irradiação com laser de argônio de 514,5 nm utilizando 4 W de potência, diâmetro do feixe de 0,1 mm, tempo de exposição de 5 minutos e aplicação de fluoreto de sódio antes da irradiação promoveu uma desmineralização significativamente menor que as amostras de esmalte tratadas apenas com o flúor.

Em 1989, dando continuidade aos seus estudos, Tagomori & Morioka comprovaram que o flúor fosfato acidulado é mais efetivo que o fluoreto de sódio no aumento da resistência ao ataque ácido, se aplicado após a irradiação do esmalte. Os autores observaram ainda que a profundidade de fusão promovida pelo laser de Neodímio, aplicado com uma densidade de energia superior a 30 J/cm^2 na superfície de esmalte, foi de aproximadamente $5 \mu\text{m}$.

Em 1988, Morioka *et al.* compararam os efeitos promovidos por vários comprimentos de onda, associados ou não ao flúor tópico, na desmineralização do esmalte. Os autores observaram que a inibição da dissolução de cálcio foi de 90% quando o laser de Nd:YAG operando em chaveamento Q foi utilizado com densidade de energia superior a 30 J/cm^2 e o flúor fosfato acidulado foi aplicado por 24 horas.

A transformação da hidroxiapatita em fluorapatita pelo laser de CO_2 foi estudada por Meurman *et al.* em 1997. Amostras de hidroxiapatita sintética misturada ao fluoreto de sódio foram irradiadas com o laser de CO_2 , no modo de emissão contínuo e com densidades de energia de 21, 38, 54, 105, 225 e 500 J/cm^2 . Os autores verificaram que a formação de fluorapatita pode ser obtida e o limiar de densidade de energia necessário foi de 38 J/cm^2 .

Em 2000, Anderson *et al.* investigaram a resistência à cárie de amostras de esmalte humano tratadas com o laser de Argônio, em baixa fluência, associado à aplicação de flúor. As amostras tratadas com fluoreto de sódio por 4 minutos e irradiadas com $11,5 \text{ J/cm}^2$ apresentaram uma redução na profundidade das lesões de cárie em 29 %. Entretanto, os grupos

que receberam apenas a aplicação do laser ou a aplicação do flúor fosfato acidulado previamente à irradiação não apresentaram diferenças em relação ao controle.

Boari (2000) avaliou clinicamente o potencial preventivo do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado aplicado em sulcos e fissuras. Foi utilizado um grupo controle que recebeu somente a aplicação do flúor tópico. Após um ano, o autor observou a formação de cavitações e manchas brancas consideradas como lesões de cárie ativas em ambos os grupos. Entretanto, o grupo tratado com laser e flúor apresentou resultados superiores ao controle com uma diferença estatisticamente significativa.

Hsu *et al.* (2001) demonstraram a relação entre a irradiação com o laser de CO₂ a aplicação de flúor e a presença da matriz orgânica na desmineralização do esmalte dentário. O laser foi utilizado com densidade de energia de 0,3 J/cm² e, antes da irradiação, as amostras de esmalte foram tratadas com fluoreto de sódio a 2,0 % por 4 minutos. Os autores concluíram que a presença de flúor durante a irradiação aumenta a resistência à desmineralização apenas no esmalte sem a matriz orgânica.

Huang *et al.* (2001) avaliaram *in vitro* os efeitos preventivos promovidos pelo laser de Nd:YAG associado à aplicação de Duraphat em dentes humanos. Os autores concluíram que esta associação é mais efetiva que somente a irradiação laser, promovendo a inibição em 43% da formação de lesões cáries em fôssulas e fissuras e em 80% em superfícies lisas, quando comparado ao grupo sem tratamento.

Santos *et al.* (2001) testaram a hipótese que a irradiação com o laser de CO₂ TEA, associado ao flúor, pode ser efetivo na inibição da progressão das lesões de cárie no esmalte sadio e desmineralizado. As amostras de esmalte com e sem lesões de cárie foram irradiadas com fluências de 1 e 1,5 J/cm² e alguns grupos foram tratados com flúor fosfato acidulado por 5 minutos antes ou após a irradiação. Pelos resultados obtidos verificou-se que todos os grupos irradiados apresentaram maior resistência à perda de minerais que os grupos controles. O tratamento com flúor antes da irradiação foi mais efetivo que depois da aplicação do laser, da mesma forma que a irradiação com 1,5 J/cm² promoveu maior inibição na desmineralização.

Em 2001, Yu *et al.* investigaram a resistência à desmineralização adquirida pelo esmalte e dentina após o tratamento com fluoreto diamínico de prata [Ag(NH₃)₂F] seguido pela irradiação com diodo laser (830 nm). O laser foi utilizado com potência de 2 W no modo de emissão contínuo, durante 30 segundos. Os autores observaram que a concentração de

cálcio presente na solução ácida era significativamente menor que o controle nos grupos tratados com o flúor ou com o flúor e o laser. Entretanto, apenas nas amostras de dentina o laser associado ao $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ apresentou um resultado superior ao tratamento com a solução de flúor.

A solubilidade do esmalte dental irradiado com o laser de Er:YAG e Er,Cr:YSGG, associado ou não ao tratamento com fluoreto de sódio foi investigado por Apel *et al.* (2002). Ambos equipamentos foram utilizados com densidades de energia de 4, 6 e 8 J/cm^2 ; taxa de repetição de 5 Hz e tempo de exposição de 25 segundos. Os valores de cálcio medidos em cada grupo mostraram que houve uma diminuição na solubilidade do cálcio com o aumento da densidade de energia utilizada, principalmente para o Er,Cr:YSGG. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos irradiados e o grupo controle. As amostras que receberam a aplicação do flúor apresentaram redução significativa na demineralização e a associação ao laser não promoveu um aumento nesta redução.

Santaella *et al.* (2003) avaliaram a inibição de formação de cárie em esmalte decíduo irradiado com laser de diodo de 809 nm associado ou não a um verniz de flúor. O laser foi aplicado com energia de 140 mJ, taxa de repetição de 50 Hz e fibra de 600 μm , e o tratamento com verniz de flúor foi realizado durante 6 horas. Os autores verificaram que a resistência obtida pelo laser foi superior ao controle, mas inferior ao verniz e a associação dos dois tratamentos foi igualmente eficaz ao flúor tópico.

Conforme o comprimento de onda e as condições de irradiação utilizadas, diferentes quantidades de luz serão absorvidas e convertidas em calor, promovendo diferentes alterações na estrutura dental. Possivelmente este fato justifique a existência de diversas teorias a respeito do assunto na literatura.

Fowler & Kuroda (1986) relataram que as alterações promovidas no esmalte dental submetido ao aquecimento entre 100 e 650 $^{\circ}\text{C}$ provavelmente provocam a diminuição da solubilidade neste tecido. Segundo os autores, a diminuição abrupta no conteúdo de água e carbonato ocorre entre 250 e 300 $^{\circ}\text{C}$. Entre 300 e 500 $^{\circ}\text{C}$ o conteúdo de hidróxido (OH) progressivamente aumenta enquanto que o aumento no conteúdo de pirofosfato ocorre entre 200 a 400 $^{\circ}\text{C}$. Os autores sugerem que em temperaturas de até 650 $^{\circ}\text{C}$ o pirofosfato exerça um efeito substancial na diminuição da solubilidade.

Oho & Morioka (1990) observaram que o esmalte irradiado apresentava microespaços adicionais formados provavelmente devido à perda de substâncias orgânicas e à contração do eixo - α dos cristais de apatita, que é causada pela perda de água e carbonato durante o processo de irradiação. Os autores sugeriram que os íons dissolvidos pelo ataque ácido são depositados nestes microespaços e assim previnem a desmineralização.

Tagomori & Iwase (1995) atribuíram o aumento da resistência à desmineralização do esmalte exposto à radiação de laser pulsado ao aumento na dimensão dos cristais de hidroxiapatita provocados pela fusão e ressolidificação do esmalte irradiado.

Outra teoria relatada propõe que a desmineralização do esmalte depende, entre vários fatores, dos componentes orgânicos. Segundo Sato (1983) o esmalte aquecido há 300 °C apresenta a menor profundidade de lesões de cárie e há 350 °C, a menor perda de cálcio após a desmineralização. O autor sugere que um aquecimento que induza alterações da matriz orgânica podem ocasionar o bloqueio dos espaços inter e intraprismáticos do esmalte. Conseqüentemente, a difusão de íons fica comprometida, fato que retarda a desmineralização e diminui a perda mineral. Hsu *et al.* (2000) acreditam que este efeito bloqueador da porção orgânica do esmalte atinge seu pico entre 300 e 400 °C e diminui a partir desta temperatura devido à completa decomposição da matriz.

Há ainda a teoria que propõe que o aquecimento da hidroxiapatita carbonatada da superfície e subsuperfície do esmalte, a temperatura superior a 400 °C promove a decomposição do carbonato deixando a hidroxiapatita menos solúvel que originalmente (Featherstone, 2000b). Holcomb & Young (1980) demonstraram que entre 200 e 500 °C diminui a substituição de CO_3^{2-} por PO_4^{3-} na estrutura da apatita e aumenta a substituição de CO_3^{2-} por OH^- .

Diversos estudos demonstram que a associação do laser e do flúor é mais efetiva que a utilização destes dois tratamentos separadamente. Segundo Goodman & Kaufman (1977) e Tagomori & Morioka (1989), quando a radiação laser é associada à aplicação de flúor tópico ocorre um aumento na incorporação de flúor no esmalte irradiado. Para Tagomori & Morioka (1989) o composto formado após tratamento foi o fluoreto de cálcio. Ao contrário, Goodman & Kaufman (1977) sugeriram que o aquecimento promoveu a formação de fluorapatita. Meurman *et al.* (1997) demonstraram que a transformação da hidroxiapatita em fluorapatita é possível.

3.6 Laser de diodo em Odontologia

Poucos estudos podem ser encontrados na literatura abordando as aplicações dos lasers de diodo em tecidos duros dentários. A maioria dos trabalhos consultados direciona as aplicações deste laser em tecidos moles e redução microbiana.

McNally *et al.* (1997) avaliaram diferentes parâmetros do laser de diodo de 796 nm, associado à aplicação de verde de idiocianina, na ablação de tecidos dentários cariados. A quantidade de tecido ablacionado, a dureza Vickers e o aumento de temperatura no interior da câmara pulpar e na superfície irradiada foram mensurados, e a morfologia destas superfícies foi analisada ao microscópio eletrônico de varredura. As condições de irradiação utilizadas foram 500, 600, 700 e 850 mW de potência, modo contínuo, diâmetro do feixe de 0,5 mm e tempo de exposição de 120 segundos. A eficiência na ablação, as temperaturas no interior da câmara pulpar e na superfície irradiada variaram conforme a concentração do cromóforo e a potência utilizada. Não foram observadas fissuras ou rachaduras e os valores de dureza da superfície irradiada foram semelhantes aos de tecidos sadios.

Quinto Jr. (2001) realizaram um estudo *in vitro* com o laser de diodo (960nm) e o esmalte dental e concluíram que este laser pode promover fusão da superfície do esmalte irradiado, na ausência de ablação e com elevação de temperatura mínima não danosa à polpa dental.

Em relação à prevenção de cárie, Yu *et al.* (2001) demonstraram que o laser de diodo utilizado com 2 W no modo contínuo após a aplicação do fluoreto diamínico de prata promove resultados em dentina superiores aos do esmalte dentário. Quando utilizado no modo interrompido, com 140 mJ e 50 Hz, o laser de diodo pode promover um aumento da resistência do esmalte decíduo (Santaella *et al.*, 2003).

A utilização dos lasers como terapia coadjuvante no tratamento da doença periodontal é uma dos assuntos abordados nos estudos que utilizam o laser de diodo. O efeito desejado nesta aplicação é a ação bactericida na ausência de danos à superfície radicular e aos tecidos adjacentes.

Moritz *et al.* (1998) avaliaram *in vivo* as alterações promovidas pela irradiação com o laser de diodo de 805 nm na profundidade de bolsas periodontais, no índice de sangramento gengival e na redução microbiana. Cinquenta pacientes participaram do estudo e

foram divididos em dois grupos, controle e laser. O grupo controle foi tratado com raspagem e irrigação com água oxigenada e o grupo laser foi irradiado após a raspagem com potência de 2,5 W, duração de pulso de 10 ms, taxa de repetição de 50 Hz e tempo de exposição de 1 segundo a cada 1 mm de profundidade da bolsa. A diminuição na profundidade da bolsa periodontal e no índice de sangramento gengival e a redução bacteriana alcançada com a irradiação foi superior ao grupo controle.

Os efeitos da irradiação com laser de diodo de 810 nm na taxa de adesão de células do ligamento periodontal foram avaliados em um estudo *in vitro* conduzido por Kreisler *et al.* (2001). Os autores observaram que a irradiação utilizando 1 W de potência, no modo de emissão contínuo, durante 20 segundos não promoveu um aumento significativo na quantidade de células aderidas à superfície radicular.

Kreisler *et al.* (2002) demonstraram que a utilização do laser de diodo de 809 nm na superfície radicular varia conforme a espessura dos tecidos e deve ser limitada à potência de 0,5 a 1 W durante 10 segundos.

Os efeitos dos lasers de Er:YAG e de GaAlAs na superfície radicular e na temperatura intrapulpar foram comparados no estudo realizado por Theodoro *et al.* (2003). Os autores observaram que o laser de érbio de 2,94 μm promoveu uma diminuição da temperatura de $2,2 \pm 1,5$ °C e o laser de diodo (810 nm) provocou um aumento de $1,6 \pm 0,8$ °C e $3,3 \pm 1,0$ °C.

Em 1997, Moritz *et al.* investigaram a redução microbiana em canais radiculares e o aumento de temperatura na superfície radicular promovidos pelo laser de diodo de 810 nm. Após inoculação de bactérias e incubação das 44 amostras dentais, os condutos radiculares foram irradiados da região apical para a cervical em movimentos circulares durante 5 segundos, por cinco vezes. Seis parâmetros de irradiação foram utilizados com potências de 2, 3 e 4 W e tempo de duração do pulso de 10 e 20 ms. Em seguida, os elementos dentais foram novamente incubados em meio de cultura por 28 dias e examinados quanto ao conteúdo microbiano. Os autores observaram que apenas as amostras irradiadas com 4 W e 10 ms apresentaram total eliminação bacteriana e completa obliteração dos túbulos dentinários. Para os demais parâmetros, cinco amostras apresentaram crescimento microbiano após o tratamento. O aumento de temperatura máximo registrado na superfície radicular após 10 segundos de irradiação foi de 6 °C.

Radaelli (2002) avaliou os efeitos na irradiação com o laser de diodo de 830 nm no conduto radicular infectado por *Enterococcus faecalis*. O autor verificou que a utilização de 3 W de potência, aplicado no modo contínuo durante 5 segundos e com quatro repetições, promove resultados superiores à potência de 2,5 W utilizada nas mesmas condições. Imediatamente após a irradiação, o percentual médio para a redução bacteriana no grupo irradiado com 3 W foi de 98,5 % e, após 48 horas, o valor foi de 96,5 %. Quando a aplicação do laser foi associada ao curativo de demora com pasta de hidróxido de cálcio a redução obtida foi de 100 %. O aumento de temperatura máximo aferido por meio da análise de temperatura na superfície radicular, quando a espessura de tecido dentário apresentava valores em torno de 1 mm, foi de 8 °C.

Coluzzi (2000) afirmou que o laser de diodo por ser bem absorvido por tecido pigmentados e pouco absorvido pelos tecidos dentários pode ser utilizado em cirurgias de tecido mole próximo ao elemento dental de modo seguro. A utilização do laser de diodo em procedimentos realizados pelos lasers de Nd:YAG e CO₂ foi aprovada pela FDA (Bader, 2000). Estes procedimentos incluem corte e curetagem de tecidos moles, debridamento de bolsas periodontais e excisões ablativas.

Romanos & Nentwig (1999) avaliaram os efeitos da utilização do laser de diodo (980nm) em procedimentos cirúrgicos na cavidade bucal. Estes procedimentos incluíram frenectomias e a remoção de neoplasias benignas, hemangiomas, tecidos gengivais e hiperplasias. O laser foi utilizado no modo contínuo com potência de 6 a 10 W e, no regime pulsado com 10 a 15 W e taxa de repetição de 20 Hz. Os autores observaram que houve eficiente coagulação de lesões vasculares e que as incisões foram precisas em todos os procedimentos. As vantagens pós-operatórias como boa reparação e ausência de dor, sangramento e formação de cicatriz, foram observadas em todos os tratamentos e estiveram relacionadas aos parâmetros de aplicação escolhidos.

Goharkhay *et al.* (1999) determinaram as características das incisões e os danos provocados aos tecidos moles com a utilização do laser de diodo de 810 nm. Foram realizadas 198 incisões em margem gengival e mucosa bucal de porcos. Trinta e três parâmetros do laser foram utilizados com potências de 0,5 a 15 W e diâmetro da ponta de 200 ou 400 µm no modo contínuo ou pulsado. A taxa de repetição variou de 1,5 a 250 Hz e duração de pulso de 2-32 ms. Os autores observaram que a profundidade e a largura das incisões apresentaram forte

relação com potência utilizada, mas não com o diâmetro da ponta e modo de emissão. Nenhum dano visível a olho nu pode ser observado no tecido ósseo presente abaixo das áreas irradiadas com potências de 0,5 a 4,5 W. Os autores concluíram que o laser de diodo é eficaz no corte de tecidos moles e provoca danos toleráveis e, em virtude da excelente capacidade de coagulação, é uma importante alternativa para a cirurgia de tecidos moles na cavidade oral.

Yousuf *et al.* (2000) utilizaram o laser de diodo de 830 nm na remoção de pigmentação melânica da gengiva de cães. O laser foi aplicado com potência de 3 W no modo contínuo e com diâmetro do feixe no tecido alvo de 4 mm. Não foi observada hemorragia ou carbonização dos tecidos irradiados. Por meio do exame histológico observou-se que as amostras de tecido removidas imediatamente após o procedimento não apresentavam células inflamatórias ou dano tecidual. Após três semanas notou-se a proliferação de células epiteliais.

3.7 Microscopia eletrônica da varredura

Basicamente um microscópio eletrônico de varredura (MEV) é composto pelo canhão eletrônico, que produz o feixe de elétrons primário; as lentes eletromagnéticas e aberturas, responsáveis pela focalização do feixe na amostra; o sistema de vácuo, que permite a passagem dos elétrons pela coluna do microscópio sem a interferência de outras moléculas; as bobinas de varredura, responsáveis pela movimentação do feixe sobre a amostra; a plataforma para colocação do espécime; o detector de sinais e componentes de visualização da imagem (Postek, 1980). Na FIG. 1 são representados alguns dos componentes do MEV.

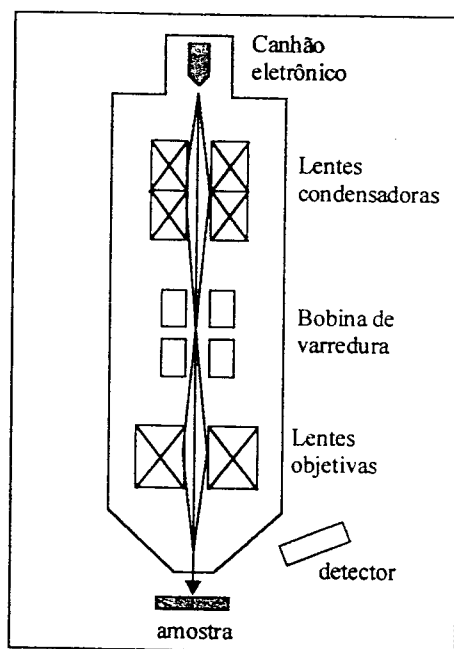


FIGURA 1 - Diagrama com componentes do MEV

A imagem formada pelo MEV é originada a partir da varredura realizada por um estreito feixe de elétrons, gerado no canhão eletrônico, na superfície de uma amostra. As bobinas do sistema de deflexão deslocam o feixe sobre a amostra, mediante uma varredura horizontal e vertical. A interação do feixe com os átomos superficiais do material resulta no espalhamento elástico, responsável pela emissão de elétrons retroespalhados, e no espalhamento inelástico, levando à emissão de elétrons secundários (FIG. 2). Os elétrons são coletados pelo coletor, que é polarizado positivamente e são direcionados para o cintilador. No cintilador os elétrons são focalizados e é produzido um pulso luminoso (fótons) que é transportado através de um guia de luz até a fonte multiplicadora. Estes fótons são convertidos em um sinal eletrônico amplificado (pulso elétrico amplificado). Este sinal é então mostrado na superfície (tela) de um tubo de raios catódicos (sistema de visualização de imagem). As regiões claras e escuras sobre a tela constituem a imagem. Os elétrons que atuam na formação da imagem são os elétrons secundários e os retroespalhados. Entretanto no modo de operação mais utilizado o sinal que se detecta é a emissão de elétrons secundários (Postek *et al.*, 1980).

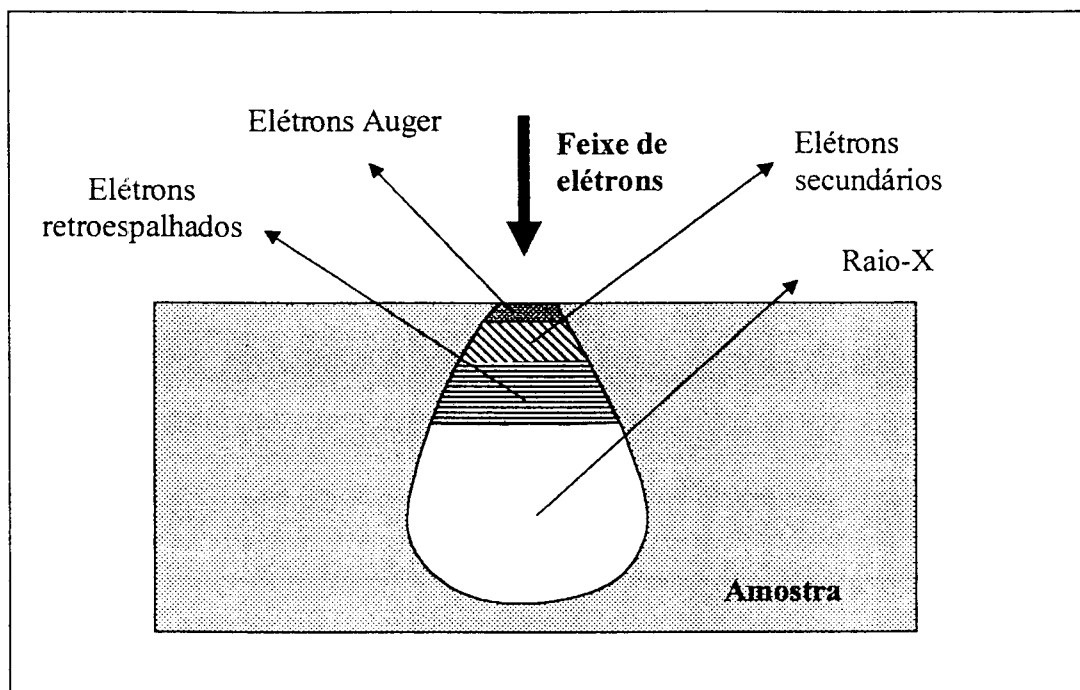


FIGURA 2 – Representação esquemática dos sinais gerados pela interação de um feixe de elétrons com uma amostra.

3.8 Espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES).

A espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido, ICP-AES (de nomenclatura inglesa *Inductively Couple Plasma Atomic Emission Spectrometry*), é uma técnica analítica que pode ser utilizada para a determinação de elementos maiores, menores e em níveis de traços baseada nos espectros de emissão dos elementos (Santos, 1999). O plasma utilizado no ICP-AES é formado pela ionização de gás argônio e é utilizado como fonte de excitação para análise quantitativa (Pedro, 1998). A excitação dos íons-átomos da amostra ocorre em função da transformação da energia cinética das partículas em energia de excitação, após a colisão destes íons-átomos com os elétrons-íons do argônio (Santos, 1999). Quando o átomo é excitado, um ou mais elétrons passam do nível fundamental (nível de menor energia) para níveis de maior energia. Com o retorno destes elétrons aos níveis fundamentais, os átomos emitem radiação eletromagnética (FIG. 3) com comprimento de onda característico a cada elemento (Moore, 1989a). A intensidade da linha do espectro de emissão é proporcional à concentração do elemento sob análise (Santos, 1999).

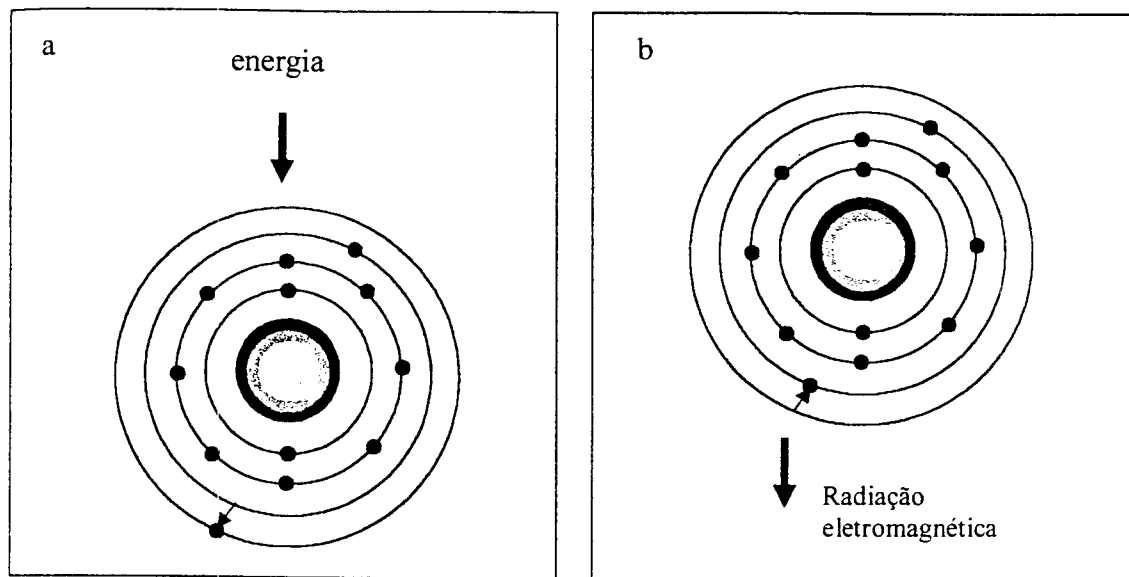


FIGURA 3 – Átomo no estado excitado (a) e emissão de radiação eletromagnética (b).

O plasma é formado numa tocha de quartzo constituída por três tubos concêntricos, com entradas de gás independentes (Santos, 1999), como mostra a FIG. 4. O tubo central é o que conduz a amostra em forma de aerosol para dentro do plasma. O tubo intermediário carrega o fluxo de gás auxiliar necessário para a estabilização do plasma e, entre o tubo exterior e o intermediário flui o fluxo de argônio chamado de gás refrigerante ou plasma gás, que atua para formar o plasma e prevenir a fusão da tocha por causa das elevadas temperaturas atingidas (Pedro, 1998).

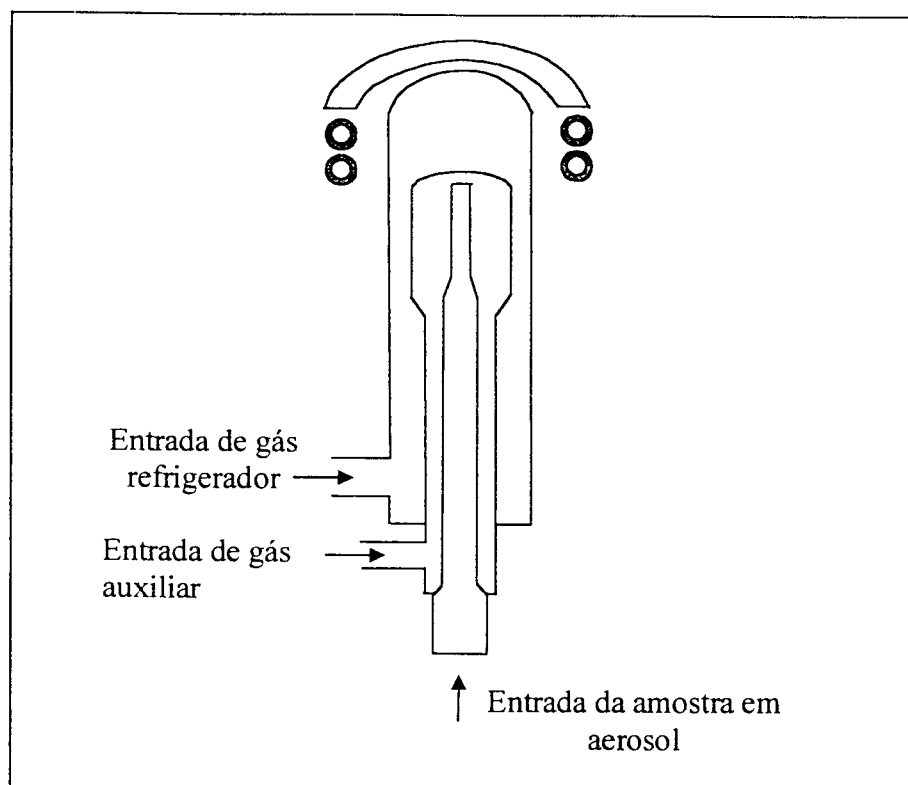


FIGURA 4 – Configuração da tocha do ICP-AES.

Algumas características desta técnica analítica como a baixa interferência química da matriz, que resulta em boa sensibilidade e alta precisão (desvio padrão relativo de 0.5 a 1%); os baixos limites de detecção; a capacidade de realização de análise multielementar e de determinação de uma ampla faixa de elementos denotam as vantagens do ICP-AES (Moore, 1989b; Santos, 1999).

4 ETAPAS EXPERIMENTAIS

A fase experimental deste estudo foi dividida em duas etapas descritas a seguir. Todos os elementos dentários utilizados eram humanos e foram obtidos do banco de dentes da FOUSP, após aprovação do comitê de ética em pesquisa do IPEN (ANEXO A). A conservação destes dentes foi feita em água deionizada.

4.1 ETAPA 1 -- DETERMINAÇÃO DA SUBSTÂNCIA ABSORVEDORA E DA METODOLOGIA DE AFERIÇÃO DE TEMPERATURA

4.1.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Nesta etapa experimental foram utilizados os seguintes equipamentos e materiais:

1. equipo odontológico Gnatus;
2. caneta de alta rotação, micromotor, contra ângulo Kavo;
3. laser de diodo de 960 nm;
4. óculos de proteção;
5. detector de alta potência (modelo 818T-150, Newport Corporation, California, USA);
6. placa de peltier (modelo CP2-12706L, Melcor, New York, USA);
7. banho térmico;
8. controlador programável de temperatura (modelo 2416, Eurotherm, UK);
9. amplificador de voltagem (com ganho de 800x);
10. conversor analógico-digital (amplificador lock-in, modelo 5RS10 Stanford Research System, USA);
11. computador;

12. conversor de temperatura (modelo TC-253, Beckman Inc., California, USA);

13. osciloscópio digital (modelo TDS360, Tektronix Inc., Oregon, USA);

14. materiais:

- pó de carvão vegetal (Herbarium Laboratório Botânico Ltda., Paraná, Brasil);
- etanol absoluto (Merck KGaA, Darmstadt, Germany);
- água deionizada;
- solução detergente (tergenson, Inodon Lab., Rio Grande do Sul, Brasil);
- solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% (Sidepal Ind. Com. Ltda., São Paulo, Brasil);
- colher dosadora do ionômero de vidro Vidrion (SS White Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, Brasil);
- pote dappen;
- conta gotas;
- pincel;
- ponta diamantada para alta rotação nº 1013 (KG Sorensen Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brasil);
- lima endodôntica – k flex file;
- pasta térmica de silicone (KS-609, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Japão);
- termopar tipo K constituído de Cromel – Alumel, com diâmetro de 0,125 mm (Omega Engineering Inc., USA);
- palito de madeira;
- nanquim (A. W. Faber Castell S. A., São Paulo, Brasil);
- massa de modelar (A. W. Faber Castell S. A., São Paulo, Brasil);
- sete incisivos centrais inferiores humanos e hígidos.

Métodos

Para a determinação da substância absorvedora foram utilizados pó de carvão vegetal, etanol 50% e 25% obtidos pela diluição de etanol absoluto em água deionizada, solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, solução detergente, água deionizada e um elemento dental. A quantidade do pó de carvão vegetal foi padronizada em uma medida rasa

da colher dosadora do ionômero de vidro Vidrion, que corresponde a aproximadamente 0,060g de carvão vegetal. O pó foi disposto em um pote dappen e o líquido em teste foi acrescido gota a gota até a observação do completo umedecimento do pó. A partir da obtenção deste aspecto a mistura foi aplicada, com auxílio de um pincel, sobre o esmalte dental e foram observadas as seguintes características: ocorrência ou não de molhamento do pó pelo líquido e de rápida evaporação do veículo, facilidade na aplicação e remoção da mistura sobre a superfície dental, homogeneidade e espessura da camada obtida. A quantidade adequada do veículo foi determinada segundo os resultados observados em cada proporção. Após a obtenção da correta proporção, foi avaliado também a mistura um pouco mais diluída. Durante todo o experimento dois observadores avaliaram as características apresentadas por cada uma das misturas.

Após a obtenção dos resultados, a mistura mais apropriada foi utilizada para os ensaios de aferição de temperatura. Previamente foi realizado um experimento para avaliar um sistema de manutenção do elemento dental em temperatura constante e de registro das alterações de temperatura ocorridas. Seis incisivos centrais inferiores humanos, hígidos foram escolhidos para a realização deste estudo. Utilizando-se uma ponta montada em alta rotação, com refrigeração ar-água, foi realizada uma abertura na face lingual da coroa dental, de modo que fosse promovida a exposição da câmara pulpar. Com auxílio de limas endodônticas (tipo k-file 15 a 50) e irrigação com água deionizada foi realizado o esvaziamento e preparo radicular. Em seguida a câmara e o conduto radicular foram preenchidos com pasta térmica de silicone e um termopar tipo K constituído de Cromo – Alumínio, com diâmetro de 0,125 mm foi inserido e fixado junto à parede vestibular da câmara pulpar com o auxílio de um fragmento de madeira (FIG. 5).

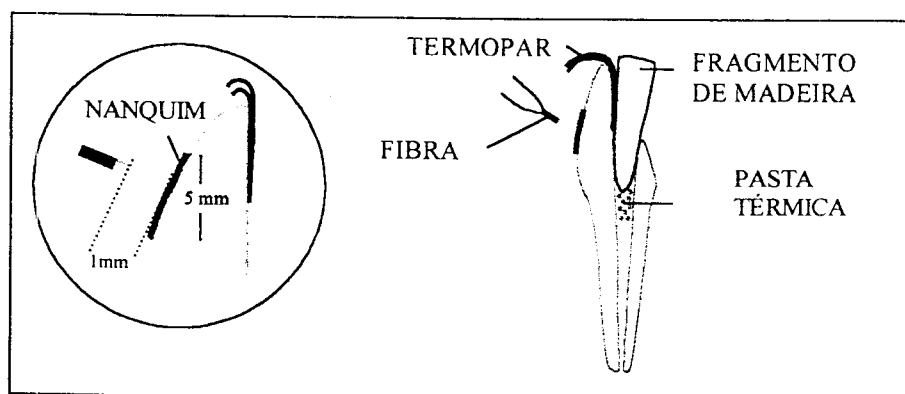


FIGURA 5 - Preparação da amostra para inserção do termopar e posicionamento da fibra durante a irradiação.

Para promover o aquecimento da superfície dental foi utilizado um laser de diodo de 960nm, construído no Laboratório de Desenvolvimento de Lasers do Centro de Lasers e Aplicações do IPEN (FIG. 6). Durante a irradiação, a fibra de 600 μm permaneceu posicionada a aproximadamente 1mm de distância da superfície do esmalte, varrendo uma área de 5x5 mm. Antes de cada irradiação foi aplicado uma camada de nanquim sobre a área a ser irradiada. O laser de diodo foi utilizado no modo de emissão quasi-contínuo (qcw) e os parâmetros utilizados foram potência pico 5 W, duração do pulso 10 milisegundos, taxa de repetição 6,5 Hz, fluência por pulso 5, 7 J/cm^2 e tempo de irradiação 10 segundos. Antes de cada aplicação, a potência de saída do laser foi aferida no medidor de potência e quando foi observada uma diminuição na potência, a ponta da fibra foi clivada.

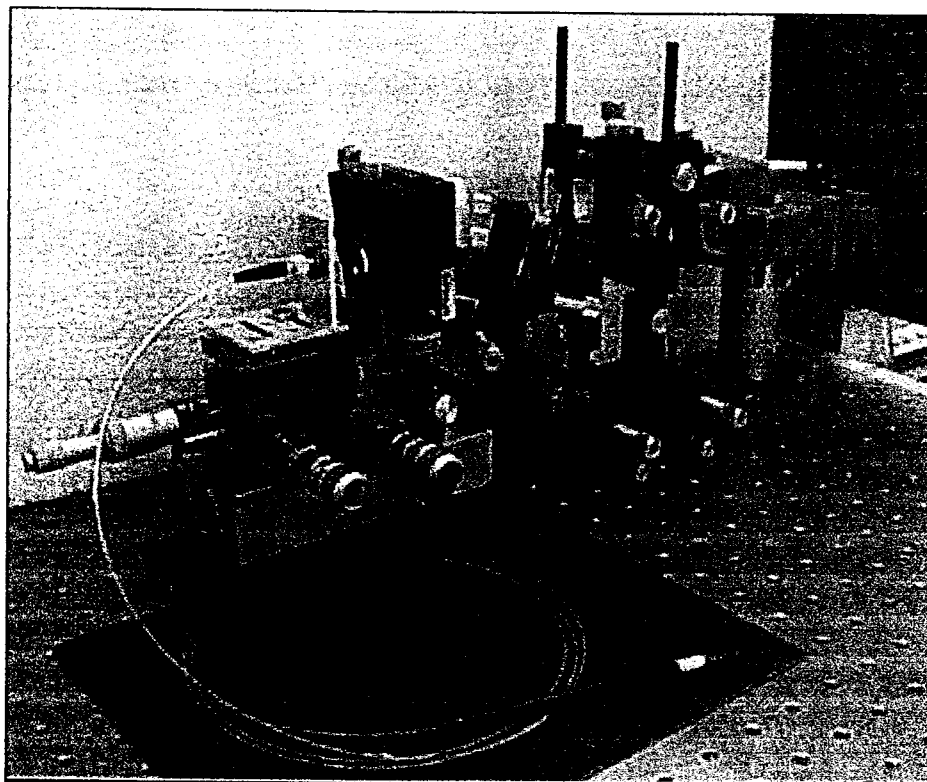


FIGURA 6 – Protótipo de laser de diodo de 960 nm.

Três diferentes sistemas foram utilizados para medir as alterações de temperatura no interior da câmara pulpar, como é mostrado na TAB. 1, e todos os dentes foram irradiados por três vezes em cada sistema.

TABELA 1 - Composição dos três sistemas usados para a mensuração das alterações de temperatura na câmara pulpar.

Sistema 1 (AL)	Água (A)	Lock-in (L)
Sistema 2 (AO)	Água (A)	Osciloscópio digital (O)
Sistema 3 (MO)	Massa de modelar (M)	Osciloscópio digital (O)

O elemento dental foi imerso na água ou na massa de modelar, ambos mantidos a 36 °C, deixando exposta a porção coronária. A água foi mantida à 36 °C pelo banho térmico e o elemento dental foi fixado com a porção radicular imersa na água (Fig. 7). A massa de modelar foi fixada no topo de uma placa de peltier e a temperatura foi mantida a 36 °C através de um controlador programável de temperatura, como é mostrado na FIG. 8. A temperatura do ar acima do banho térmico foi registrada em 30 °C e a temperatura do laboratório foi mantida a 23 °C durante todo o experimento.

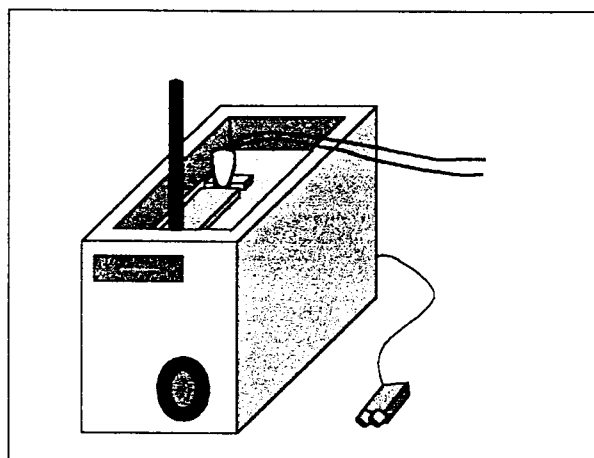


FIGURA 7 – Ilustração do equipamento utilizado no banho térmico para o meio de manutenção da temperatura do elemento dental composto pela água.

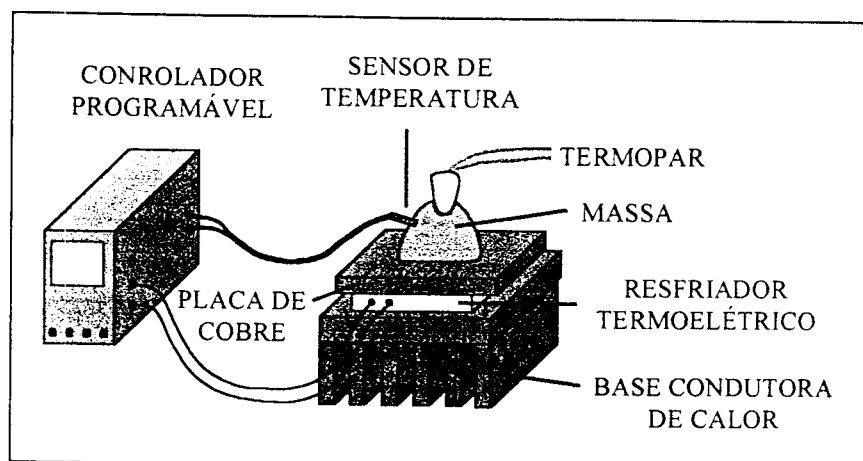


FIGURA 8 – Ilustração dos equipamentos utilizados para manutenção da temperatura do elemento dental à 36 °C no conjunto composto pela massa de modelar.

No sistema AL o registro dos dados coletados pelo termopar foi realizado pelos equipamentos amplificador de voltagem, conversor analógico-digital (*lock-in*) e um computador (FIG. 9). Nos sistemas AO e MO o termopar foi conectado a um conversor de temperatura acoplado a um osciloscópio digital, como é mostrado na FIG. 10.

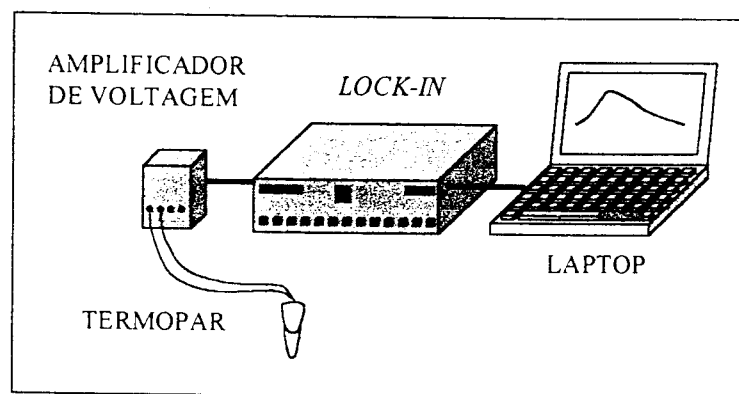


FIGURA 9 – Equipamentos de registro de dados do conjunto composto pelo *lock-in*.

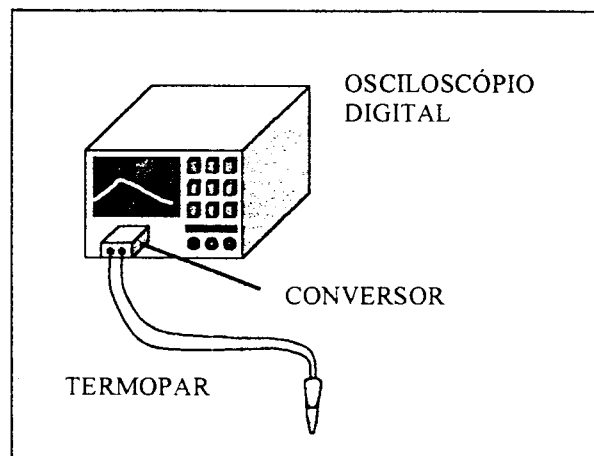


FIGURA 10 – Ilustração dos equipamentos de registro de dados utilizados no conjunto composto pelo osciloscópio.

As alterações de temperatura mensuradas no sistema AL foram comparadas ao AO para avaliar as diferenças entre os dois sistemas de registro e as alterações no sistema AO foram comparadas ao MO para analisar os dois meios utilizados na manutenção do elemento dental em temperatura corpórea. Os dados foram analisados pelo t-test pareado. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4.1.2 RESULTADOS

As características observadas nas misturas e nas camadas aplicadas estão descritas na TAB. 2. Em todos os aspectos houve um consenso entre as respostas dos dois observadores.

TABELA 2 - Características observadas em cada mistura e na camada obtida após a aplicação sobre a superfície dental.

Características	Etanol 50%	Etanol 25%	Solução fisiológica	Solução detergente	Água deionizada
Ocorrência de molhamento	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO
Homogeneidade	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO
Espessura fina	SIM	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
Facilidade de aplicação	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO
Facilidade de remoção	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
Rápida evaporação	SIM	SIM	NÃO	NÃO	NÃO
Quantidade adequada	-	-	4	6	-

As alterações de temperatura medidas dentro da câmara pulpar nos três sistemas utilizados estão ilustradas na FIG. 11. Estes valores foram obtidos a partir da média de todas as medidas obtidas em cada sistema.

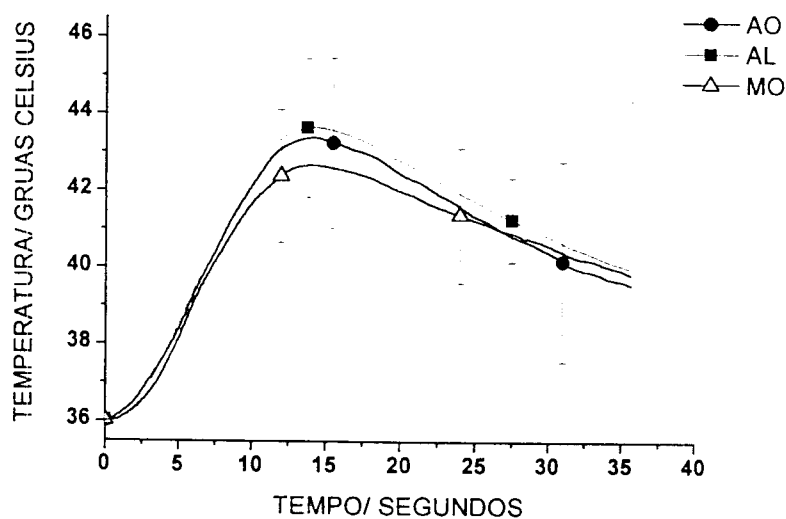


FIGURA 11 - Gráfico das médias das alterações de temperatura medidas e dos desvios padrão, em função do tempo, nos sistemas água e osciloscópio (AO), água e *lock-in* (AL) e massa e osciloscópio (MO).

A média do aumento de temperatura registrada em cada sistema está apresentada na TAB. 3. O t-teste pareado demonstrou que as alterações ocorridas no sistema AL, comparadas ao AO ($p = 0,72122$) e o sistema AO comparadas ao MO ($p = 0,08277$) não são significativamente diferentes à nível $p < 0,05$.

TABELA 3. Médias dos aumentos de temperatura e desvios padrão de cada sistema.

Sistema	Aumento de temperatura (°C)	sd ($yEr \pm$)
AO	7,7	2,05
AL	7,8	1,64
MO	7,0	1,82

4.1.3 DISCUSSÃO

Para promover uma alteração na composição ou solubilidade do esmalte, a luz laser deve ser bem absorvida e eficientemente convertida em calor, sem provocar danos aos tecidos adjacentes (Featherstone, 2000b). O laser de diodo utilizado na etapa anterior emite luz de comprimento de onda de 960 nm. Nesta região a luz não é bem absorvida pela hidroxiapatita e ao contrário, é bem absorvido pela hemoglobina e melanina. Devido a estas características é necessária a aplicação de uma substância que absorva grande parte da luz e transmita o calor para a estrutura dental. A literatura reporta diversos trabalhos que utilizaram uma substância absorvedora com esta finalidade. Dentre eles, a remoção de tecido cariado com o laser de diodo (McNally *et al.*, 1999); o aumento da resistência à desmineralização com laser de Nd:YAG (Morioka *et al.*, 1988), Ho:YFL (Eduardo, 2001) e diodo (Yu *et al.*, 2001); modificação da morfologia das paredes do canal radicular com laser de NdYAG (Zhang *et al.*, 1998). É relato o uso do nanquim (Morioka *et al.*, 1988; Quinto Jr, 2001), do diaminofluoreto de prata (Yu *et al.*, 2001; Hossain *et al.*, 2001) e do carvão vegetal diluído em etanol 50% (Boari, 2000; Ferreira & Zezell, 2001) como substâncias absorvedoras. Entretanto, os dois primeiros materiais apresentam a desvantagem de promover o manchamento da estrutura dental (Hossain *et al.*, 2001; Boari, 2000). Em relação ao carvão diluído em etanol 50%, foi observada em um estudo preliminar (ANEXO B) que a evaporação do líquido interfere no aumento de temperatura na câmara pulpar induzidas pelo laser de diodo. Por este motivo, utilizou-se neste estudo o mesmo veículo em maior diluição, etanol 25%. Entretanto, a falta de homogeneidade, o fraco molhamento do pó de carvão por este veículo, a dificuldade de aplicação da mistura e de obtenção de uma camada fina foram características desfavoráveis observadas nas misturas que continham etanol (TAB. 2).

A maior homogeneidade e molhamento do pó pelo líquido foram observados na mistura do carvão vegetal com a solução detergente. Entretanto, a espessura da camada obtida sobre a superfície de esmalte foi maior que na mistura com solução fisiológica.

O absorvedor é uma substância que deve ser aplicada sobre a estrutura

dental antes da irradiação pelo laser. Com a incidência do feixe laser ocorre uma absorção da energia e a sua transformação local na forma de calor. Conforme os parâmetros utilizados pelo laser, por exemplo, para promover a fusão da hidroxiapatita, o aumento de temperatura na superfície da estrutura onde a irradiação foi incidida pode ultrapassar 1400°C (Kuroda & Fowler, 1984). Devido a estas propriedades térmicas dos lasers de alta intensidade, as substâncias a serem utilizadas previamente à irradiação devem ser consideradas quanto à sua composição química. Neste caso, a solução detergente requer mais estudos que avaliem as alterações que podem ser promovidas em sua estrutura química com o aumento de temperatura.

A metodologia de avaliação da quantidade de líquido necessário para a produção de cada mistura escolhida pode ser considerada um pouco subjetiva. Entretanto para se obter maior certeza da correta proporção, em todos os casos foram testadas misturas mais ou menos diluídas que as proporções consideradas adequadas pelos dois observadores.

Em relação à metodologia de aferição da temperatura, o aumento de temperatura registrado nos três sistemas foi superior a 5,5 °C (TAB. 3), limite considerado seguro (Zack & Cohen, 1965). Entretanto o objetivo da utilização do laser de diodo neste estudo foi promover alterações térmicas na câmara pulpar e não a determinação de parâmetros seguros para a utilização deste laser. Da mesma forma, o nanquim foi utilizado, pois, a sua manipulação é fácil e a variação de temperatura em função de sua composição é menor.

Alguns aspectos devem ser considerados na metodologia utilizada para a aferição de temperatura. A preparação do elemento dental é importante para garantir o acesso à câmara pulpar e a correta colocação e fixação do termopar. Contudo, o máximo de estrutura dental deve ser preservada para assegurar um maior volume para a dissipação do calor (Peters & Ausgburger, 1981). Neste estudo, o termopar foi inserido na câmara pulpar através do preparo realizado na face lingual. Ao contrário da metodologia de inserção apical (Glockner *et al.* 1998) a técnica empregada permite o posicionamento da ponta do termopar em contato direto com o tecido dentinário adjacente à área irradiada (Paghdiwala *et al.* 1993), sem a necessidade de uma radiografia para confirmar a localização do termopar. Além da localização do sensor, o preenchimento da câmara pulpar é outro aspecto importante nas alterações de temperatura na câmara pulpar. Chang & Wilder-Smith (1998) utilizaram o tecido pulpar com esta finalidade. Entretanto, a metodologia proposta pelos autores é um pouco complicada. Para inserir o

termopar, é necessário remover o tecido pulpar, mantendo a sua integridade, e reinquiri-lo após a colocação do sensor em contato com a estrutura dental. Devido a estas observações, a pasta térmica foi utilizada para preencher a câmara pulpar e aumentar o contato entre a ponta do sensor e o tecido dentário. Além disso, este material é de fácil manipulação e, de acordo com as informações do fabricante, a sua condutividade térmica ($0.19 \text{ cal.s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) é similar à condutividade térmica do sangue, que é da ordem de $0.13 \text{ cal.s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ (Tungjikusolmun *et al.*, 1997).

A diferença de espessuras de esmalte e dentina nos elementos dentais utilizados para os estudos de medição de temperatura exerce grande influência nas temperaturas mensuradas (Paghdiwala *et al.* 1993; Malmström *et al.*, 2001). Neste estudo estas diferenças foram eliminadas pela irradiação de todos os elementos dentais nos três sistemas utilizados e pela análise estatística feita com um teste pareado.

A manutenção do elemento dental em temperatura corpórea é válida por algumas razões. Qualquer alteração que ocorra na câmara pulpar num estudo *in vitro* deve simular as alterações que ocorrem clinicamente e reversão dos efeitos promovidos deve ocorrer em uma mesma velocidade (Peters & Ausgburger, 1981). Além disso, temperatura do elemento dental no momento da indução das alterações térmicas altera a condutividade térmica.

Embora a análise estatística tenha demonstrado que os dois meios utilizados não promoveram alterações de temperatura significativamente diferentes, no banho térmico foi registrado um maior aumento (TAB. 3). Esta diferença está provavelmente relacionada ao vapor de água presente sobre o conjunto banho térmico e elemento dental. Ao contrário, na massa de modelar, a porção coronária do dente esteve em contato com o ar, o que contribuiu para a dissipação do calor. Esta situação poderia simular a presença de um sugador de alta potência posicionado próximo ao elemento dental a ser irradiado, com o objetivo de promover adequado fluxo de ar e minimizando o aumento de temperatura.

Em relação à utilização de cada uma das metodologias, pudemos observar que a temperatura na massa é mais estável. Além disso, a duração do experimento utilizando este material é menor devido ao menor tempo necessário para o aquecimento da massa, que é utilizada em menor volume do que água, e também devido à inserção do elemento dental neste material ser mais simples.

Visuri *et al.* (1996) utilizaram o osciloscópio digital para o registro de temperatura e Zezell *et al.* (1996) usaram um amplificador, um *lock-in* e um laptop para o mesmo objetivo. Neste estudo os resultados obtidos na comparação entre os dois equipamentos utilizados para o registro das alterações de temperatura demonstraram que a utilização de um equipamento simples, de menor custo e precisão como o osciloscópio, não altera os registros da variação de temperatura no interior da câmara pulpar.

4.1.4 CONCLUSÕES

A mistura de carvão vegetal diluído em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, na proporção de uma medida do pó (0,060 g) para quatro gotas do líquido apresentou as melhores características para ser utilizada como agente absorvedor.

Em relação à metodologia de aferição de temperatura no interior da câmara pulpar é possível concluir que a massa de modelar é um meio alternativo ao banho térmico na manutenção de um elemento dental a uma temperatura constante e que o osciloscópio e o *lock-in* são igualmente eficazes para registro de temperatura.

4.2 ETAPA 2 - DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA ÁCIDA

4.2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Nesta etapa experimental foram utilizados os seguintes equipamentos e materiais:

1. equipo odontológico Gnatus;
2. caneta de alta rotação, micromotor, contra ângulo Kavo;
3. laser de diodo de 960nm;
4. óculos de proteção;
5. medidor de potência (modelo 818T-150, Newport Corporation, California, USA);
6. placa de peltier (modelo CP2-12706L, Melcor, New York, USA);
7. controlador programável de temperatura (modelo 2416, Eurotherm, UK);
8. conversor de temperatura (modelo TC-253, Beckman Inc., California, USA);
9. osciloscópio digital (modelo TDS360, Tektronix Inc., Oregon, USA);
10. isomet (Buelher Ltda., Illinois, USA);
11. lupa de aumento (Ramsor Com. & Ind. Ltda, São Paulo, Brasil);
12. circulador de água com temperatura controlável (RTE-140, Neslab Instruments INC., Newington, USA);
13. Microscópio Eletrônico de Varredura (modelo XL300, Philips, Eindhoven, Holanda);
14. Espectrômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido por Argônio (Atomcomp series 800, Jarrell Ash Division, USA);
15. materiais:
 - água deionizada;

- pó de carvão vegetal (Herbarium Laboratório Botânico Ltda., Paraná, Brasil);
- solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% (Sidepal Ind. Com. Ltda., São Paulo, Brasil);
- colher dosadora do ionômero de vidro Vidrion (SS White Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, Brasil);
- pote dappen;
- conta gotas;
- pincel;
- ponta diamantada para alta rotação nº 1013 (KG Sorensen Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brasil);
- lima endodôntica – k flex file;
- pasta térmica de silicone (KS-609, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Japan);
- termopar tipo K constituído de Cromo – Alumínio, com diâmetro de 0,125 mm (Omega Engineering Inc., USA);
- palito de madeira;
- massa de modelar (A. W. Faber Castell S. A., São Paulo, Brasil);
- etanol absoluto (Merck KGaA, Darmstadt, Germany);
- disco diamantado (modelo 15 HC, Buehler, USA);
- pedra-pomes (SS White Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, Brasil);
- taça de borracha (KG Sorensen, Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brasil);
- esmalte cosmético;
- flúor fosfato acidulado (Sultan Topex, DFL Indústria e Comércio Ltda., Rio de Janeiro, Brasil);
- solução de ácido láctico 0,1M e pH 4,8;
- recipientes de polietileno de baixa densidade;
- 25 terceiros molares humanos;
- três incisivos centrais inferiores humanos.

Métodos

Esta etapa foi composta pelas aferições de temperatura, pela análise ao microscópio eletrônico de varredura e pelos testes de resistência à desmineralização pelo espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido (ICP-AES). Inicialmente foram realizados três ensaios laboratoriais de medição de temperatura que utilizaram três incisivos inferiores humanos hígidos, um em cada ensaio, preparados para a inserção do termopar tipo K utilizando a mesma metodologia descrita na etapa anterior. O sistema utilizado para a mensuração da temperatura no interior da câmara pulpar foi composto pela massa de modelar e pelo osciloscópio digital. A relação entre cada grau Celsius e o sinal elétrico produzido é 1mV/C. A resolução é 0,1 °C, o tempo de resposta total do sistema (termopar, detector e osciloscópio) é 0,11 segundos.

O material utilizado para promover uma melhor absorção da irradiação pelos tecidos dentais foi o carvão vegetal diluído em solução fisiológica sobre a superfície de esmalte. Durante a irradiação com o laser de diodo (960 nm), a fibra permaneceu posicionada levemente inclinada e a aproximadamente 1mm de distância da superfície do esmalte, varrendo toda a área a ser irradiada. Antes de cada aplicação, a potência de saída do laser foi aferida no medidor de potência e quando foi observada uma diminuição na potência, a ponta da fibra foi clivada.

No primeiro ensaio de temperatura foram avaliados cinco diferentes parâmetros que estão descritos na TAB. 4.

TABELA 4 - Condições de irradiação.

Parâmetro	Tempo de irradiação (s)	Potência pico (W)	Largura Temporal (ms)	Taxa de Repetição (Hz)	Fluência por pulso (J/cm ²)	Fluência total (J/cm ²)
1	10	6,5	2,5	10	1,8	180
2	10	6,5	5	10	3,7	370
3	10	6,5	7,5	10	5,6	560
4	10	6,5	10	10	7,4	740
5	10	6,5	12,5	10	9,3	930

Foram realizadas duas irradiações para cada parâmetro sempre na mesma área e a temperatura foi registrada em cada aplicação do laser. A cada irradiação foi aplicada uma nova camada de carvão e o intervalo entre a aplicação do absorvedor e do laser foi de 5 segundos.

Estes cinco parâmetros foram também avaliados quanto à alteração na morfologia do esmalte. Dois terceiros molares humanos foram seccionados para a obtenção de 10 espécimes de esmalte. As amostras receberam uma marcação que as dividiu em duas metades, uma foi utilizada como controle e a outra foi irradiada. Cada parâmetro foi aplicado em duas amostras e cada amostra foi irradiada por três vezes. Em seguida os espécimes foram desidratados em soluções crescentes de etanol (70, 80, 90, 100%) por 30 minutos em cada solução, montados em bases metálicas e recobertos com película de ouro-paládio. O equipamento usado foi o microscópio eletrônico de varredura, que está instalado no Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais do IPEN.

O segundo ensaio de medição de temperatura avaliou o tempo de irradiação adequado para um incisivo central inferior. O parâmetro escolhido foi o que obteve o melhor resultado de temperatura e de análise morfológica. Os tempos de irradiação utilizados foram 10, 15, 20, 25 e 30 segundos e o laser foi aplicado 5 segundos após a aplicação do absorvedor. Para cada tempo utilizado foram realizadas duas irradiações. Previamente à cada irradiação, foi aplicada uma camada de carvão vegetal diluído em solução fisiológica sobre a superfície de esmalte.

No terceiro ensaio foram observadas as alterações de temperatura ocorridas no interior da câmara pulpar, segundo diferentes intervalos de tempo entre a aplicação do absorvedor e do laser. O parâmetro utilizado foi o mesmo do ensaio anterior, o tempo de irradiação foi de 10 segundos e os intervalos testados foram 5, 30, 60, 90 e 120 segundos após a aplicação do carvão.

Um ensaio piloto de avaliação da resistência à desmineralização foi realizado utilizando-se o espectrômetro de energia dispersiva de raio-X (EDS). Entretanto, esta metodologia foi abandonada pelo fato de realizar apenas análises semi-quantitativas de cálcio e fósforo (razão entre a porcentagem em peso de cálcio e fósforo) e não fornecer valores absolutos dos elementos (ANEXO C). O método escolhida para a realização dos experimentos de avaliação da resistência à desmineralização foi a espectrometria de emissão atômica. Foram utilizados 20 terceiros molares humanos hígidos conservados em água deionizada para evitar a

desidratação dos tecidos até o momento da realização do experimento. As amostras foram observadas em uma lupa de aumento de duas vezes para excluir a presença de lesões cariosas ou de manchas brancas. Por meio do seccionamento das coroas dentárias, com o auxílio de um disco diamantado montado em um isomet, foram obtidos quatro espécimes de esmalte de cada elemento dental em regiões mais planas possíveis e livres da presença de lesão de cárie ou manchas brancas. As amostras receberam uma profilaxia com pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha e em seguida os espécimes foram lavados abundantemente com água destilada. Todas as amostras receberam a aplicação de um verniz deixando uma janela exposta de 3x3 mm nos terços oclusal e médio da superfície de esmalte. Os 75 espécimes foram divididos em cinco grupos, conforme apresentado na TAB. 5.

TABELA 5 – Divisão dos espécimes em grupos e tratamento das amostras.

Grupo	Descrição	Tratamento
G1:	Controle (C)	Sem tratamento
G2:	Flúor (F)	Flúor fosfato acidulado (4 minutos)
G3:	Laser (L)	Irradiadas com laser de diodo (3,7 J/cm ² por pulso)
G4:	laser + flúor (LF)	Irradiadas com laser de diodo (3,7 J/cm ² por pulso) + Flúor fosfato acidulado (4 minutos)
G5:	flúor + laser (FL)	Flúor fosfato acidulado (4 minutos) + Irradiadas com laser de diodo (3,7 J/cm ² por pulso)

Previamente à irradiação das amostras dos grupos L e LF, foi aplicada uma camada de carvão vegetal diluído em solução fisiológica sobre a superfície de esmalte, conforme metodologia descrita na etapa 1. Após sua preparação, o recipiente contendo o mediador de absorção foi mantido fechado para evitar a evaporação do veículo. O laser de diodo foi utilizado nas condições de irradiação definidas nos experimentos anteriores (potência pico 6,5 W, duração do pulso 5 ms, taxa de repetição de 10 Hz, fluência de 3,7 J/cm², tempo de irradiação de 10 segundos e o tempo de intervalo entre a aplicação do agente iniciador e da irradiação de 30 segundos). Cada amostra foi irradiada três vezes, com intervalos mínimos de 1 minuto e em cada irradiação foi aplicada uma nova camada de carvão. A direção de movimentação da fibra durante a irradiação foi diferente em cada aplicação do laser. Imediatamente após a aplicação do laser, os resquícios do carvão vegetal foram removidos com água deionizada.

O gel de flúor fosfato acidulado contendo 1,23% de íons flúor foi aplicado sobre a superfície das amostras de modo que estas fossem totalmente recobertas. No grupo LF, a aplicação foi posterior à irradiação; no grupo FL, anterior, e no grupo F as amostras não foram irradiadas. Após o período de 4 minutos, o gel foi completamente removido com algodão embebido em água deionizada.

Uma solução de ácido láctico 0,1M e pH 4,8 foi utilizada para simular a desmineralização promovida pela ação dos ácidos produzidos pelas bactérias cariogênicas. Esta solução foi escolhida para diminuir a margem de erro na leitura dos resultados, evitando soluções que apresentassem cálcio em sua composição. As amostras foram colocadas em recipientes de polietileno de baixa densidade contendo 10 ml da solução de ácido láctico e os frascos foram mantidos parcialmente imersos em um banho térmico a 37 °C (FIG. 12) por um período de 24 horas. Durante este período os frascos foram agitados três vezes para manter maior homogeneidade na solução. Após 24 horas, os espécimes de esmalte dental foram removidos da solução ácida, foram lavados e armazenados em água deionizada.



FIGURA 12 – Circulador de água com temperatura controlável utilizado para manutenção dos recipientes contendo as amostras e a solução de ácido láctico a 37 °C.

As amostras de ácido láctico foram analisadas em seu teor de cálcio pelo espectrômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido por argônio que está localizado no laboratório de emissão com fonte de plasma indutivo (FIG. 13). Quatro padrões de cálcio em concentrações de 0,998, 9,97, 14,95 e 30,01 ppm ($\mu\text{g/ml}$) em matriz de ácido láctico foram utilizados para a construção da curva analítica (FIG. 14). Com base nesta curva, a intensidade do sinal detectado pela ionização do cálcio das amostras é quantificada (concentração).

Após a obtenção dos resultados, os valores de cálcio medidos foram submetidos à análises estatísticas conduzidas pelo t-test independente, com nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

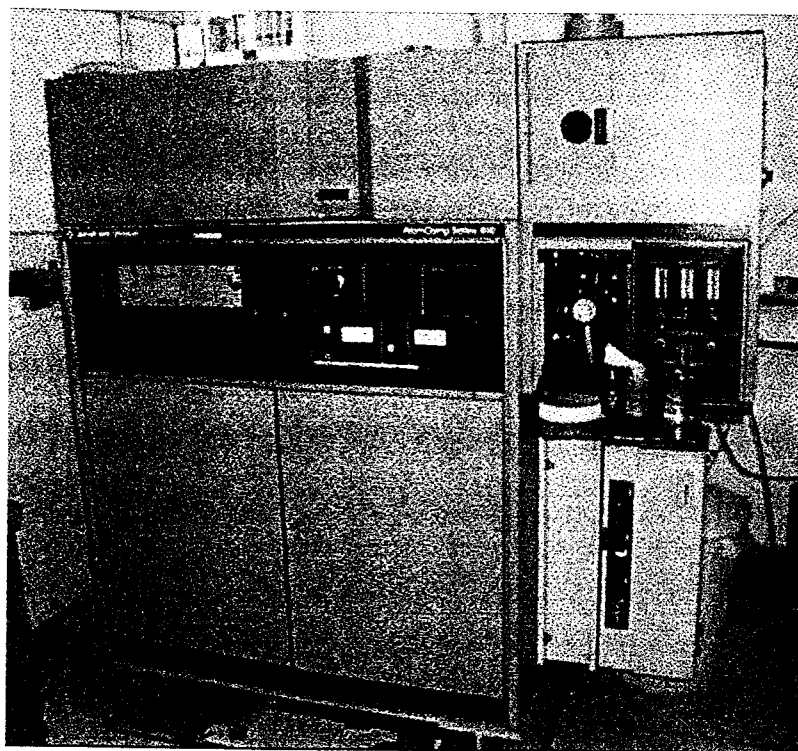


FIGURA 13 – Aparelho de ICP-AES.

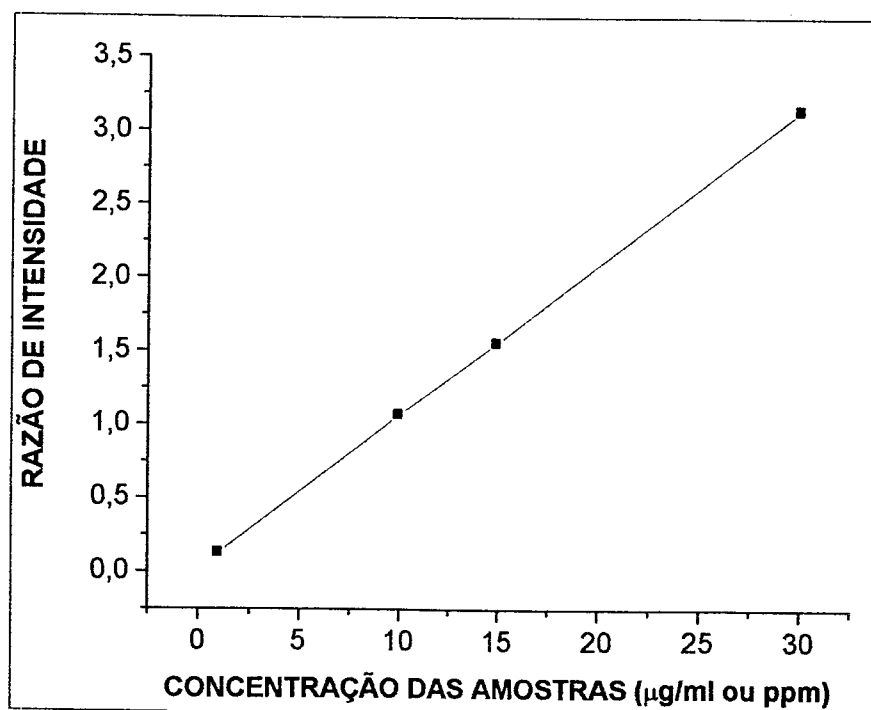


FIGURA 14 – Curva analítica obtida a partir dos quatro padrões de cálcio. Os símbolos (■) correspondem aos padrões. Razão de Intensidade: razão entre a intensidade de sinal medida e a intensidade do padrão interno.

4.2.2 RESULTADOS

A partir das duas medidas de temperatura registradas em cada parâmetro foram calculadas as médias das alterações de temperatura. Na FIG. 15 são apresentadas estas alterações de temperatura em função do tempo, e na TAB. 6 é mostrado o aumento máximo de temperatura promovido em cada parâmetro.

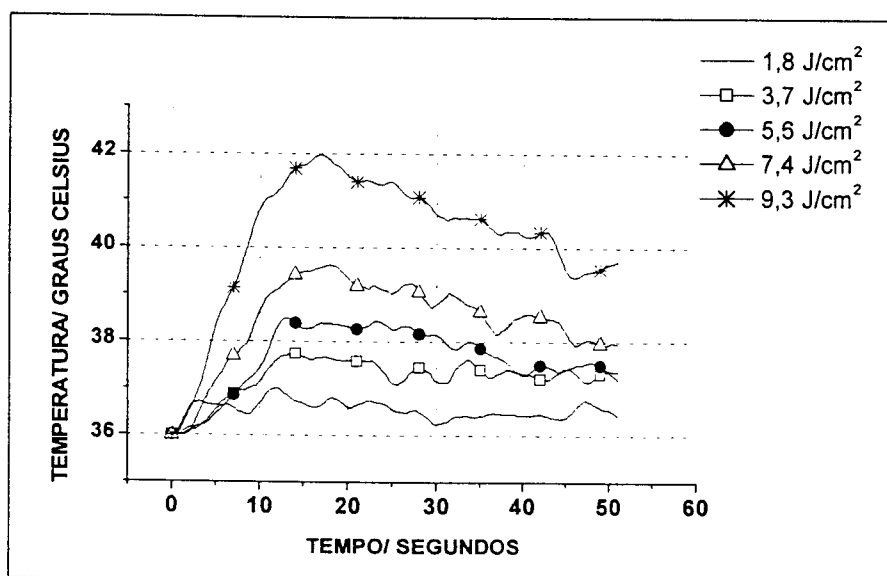


FIGURA 15 - Médias das alterações de temperatura em função do tempo em cada parâmetro de irradiação (diferenciados pelos símbolos). Cada média corresponde a 512 medidas registradas pelo osciloscópio.

TABELA 6 - Médias dos aumentos de temperatura medidos na câmara pulpar em cada parâmetro de irradiação.

PARÂMETRO (fluência)	Aumento de temperatura (°C)	dp(yEr±)
1 (1,8 J/cm ²)	1	0,165
2 (3,7 J/cm ²)	1,7	0,049
3 (5,6 J/cm ²)	2,5	0,276
4 (7,4 J/cm ²)	3,6	0,706
5 (9,3 J/cm ²)	6	0,291

As imagens da morfologia da superfície de esmalte observadas ao microscópio eletrônico de varredura em cada parâmetro de irradiação estão apresentadas nas FIG. 16 a 23. Na imagem observada na FIG. 17 verifica-se que o efeito da irradiação efetuada com parâmetro 1 ($1,8 \text{ J/cm}^2$) foi mínimo. Com o parâmetro 2 ($3,7 \text{ J/cm}^2$) podem ser observadas áreas onde ocorreu a esfoliação de tecido dental ou ablação superficial do esmalte (FIG. 18). Nas condições de irradiação 3, 4 e 5 as amostras de esmalte apresentaram áreas de ablação (FIG. 19, 20 e 21). Entretanto, nas amostras irradiadas com o parâmetro 5 pode ser observado também áreas com a superfície irregular e com presença de trincas (FIG. 22 e 23).

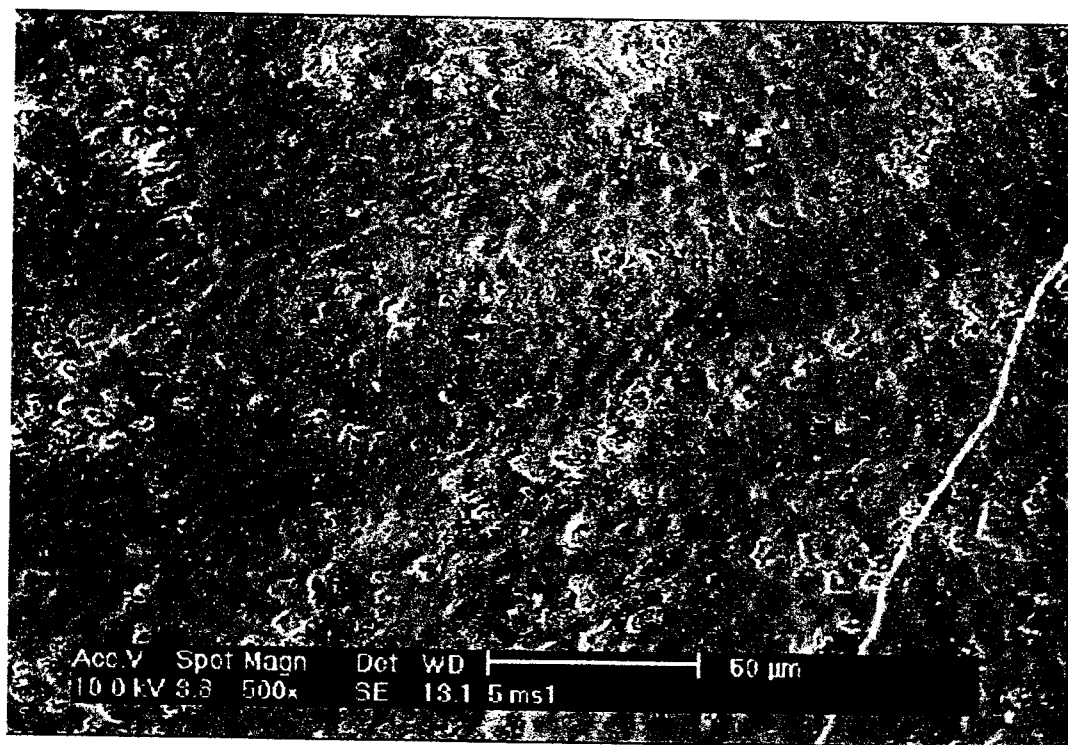


FIGURA 16 - Elétron-micrografia da amostra controle.

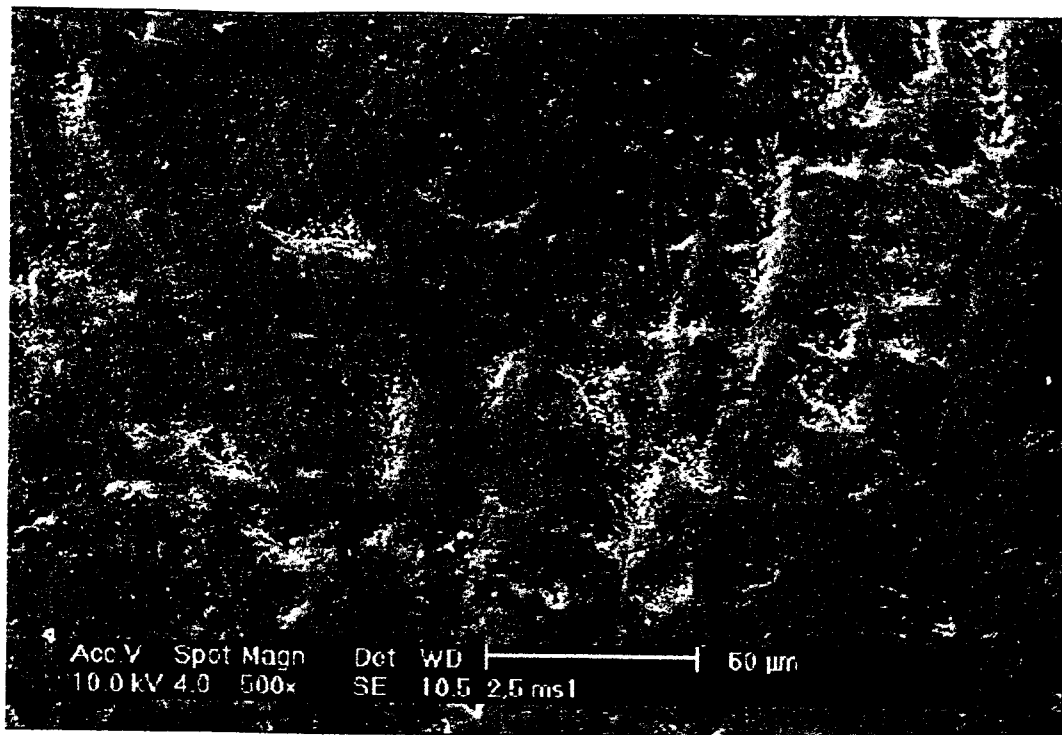


FIGURA 17 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 1 ($1,8 \text{ J/cm}^2$ por pulso).

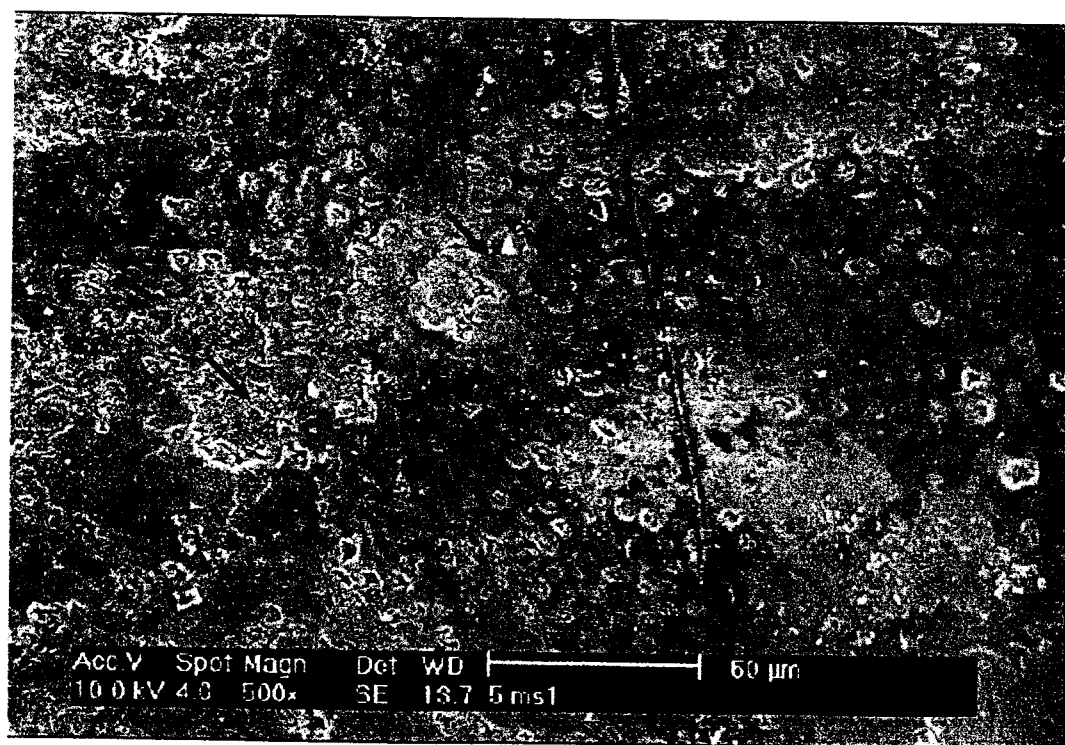


FIGURA 18 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 2 ($3,7 \text{ J/cm}^2$ por pulso). Setas indicam áreas de esfoliação do tecido dental.

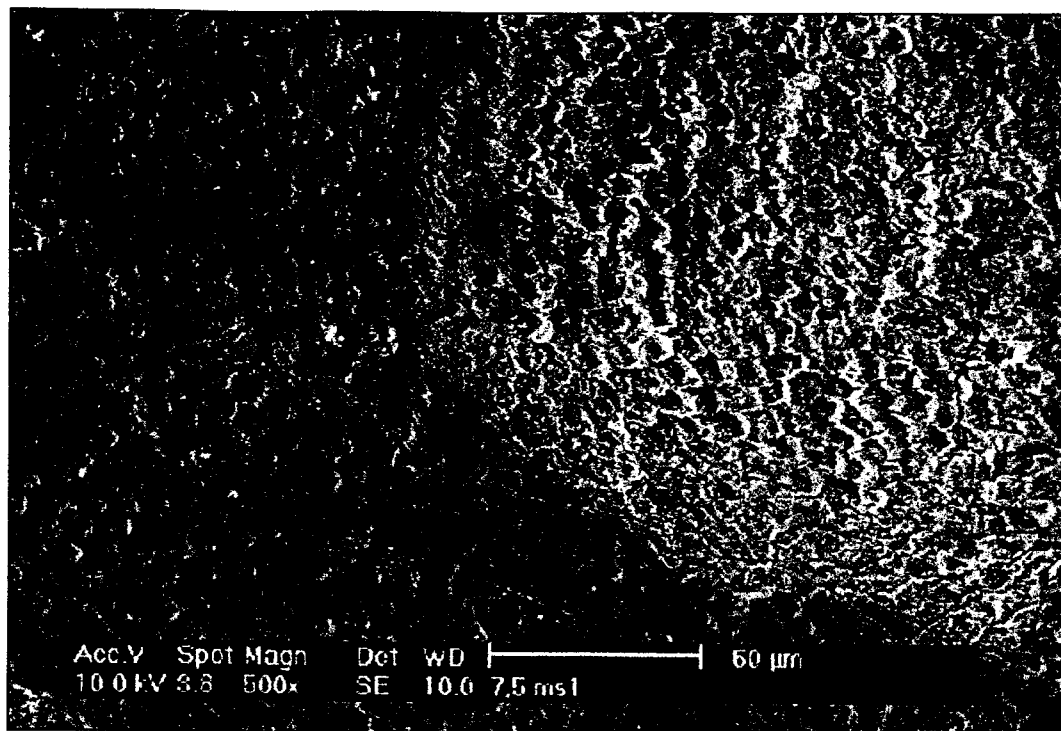


FIGURA 19 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 3 ($5,6 \text{ J/cm}^2$ por pulso). Seta indica área de ablação.

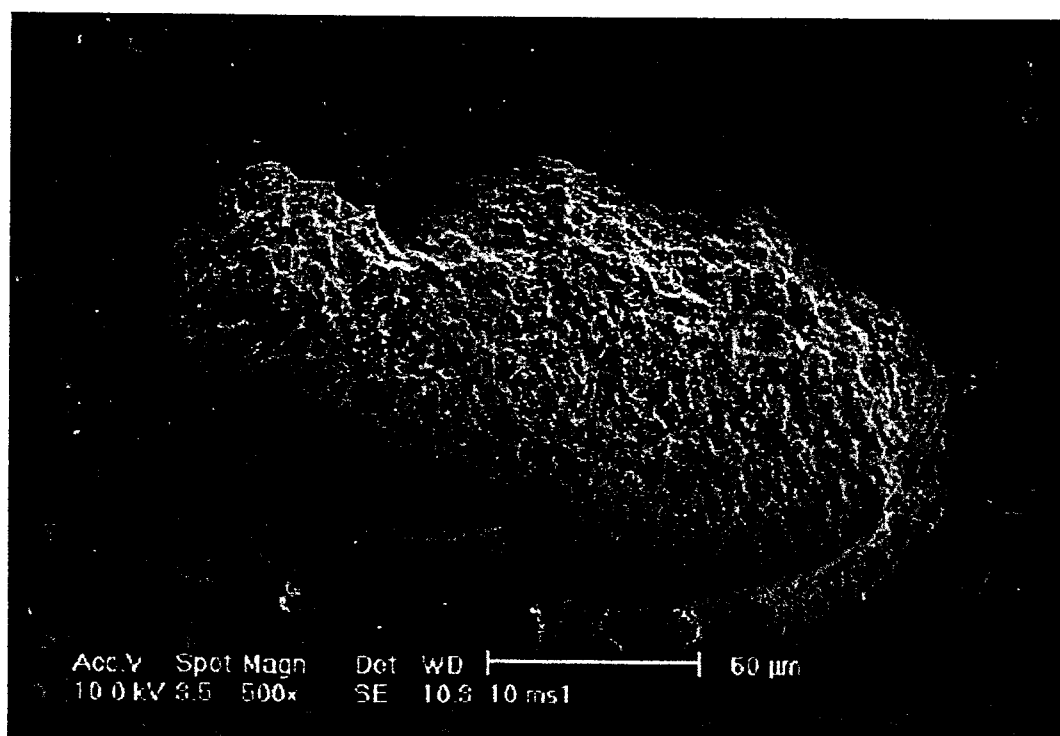


FIGURA 20 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 4 ($7,4 \text{ J/cm}^2$ por pulso). Seta indica área de ablação.

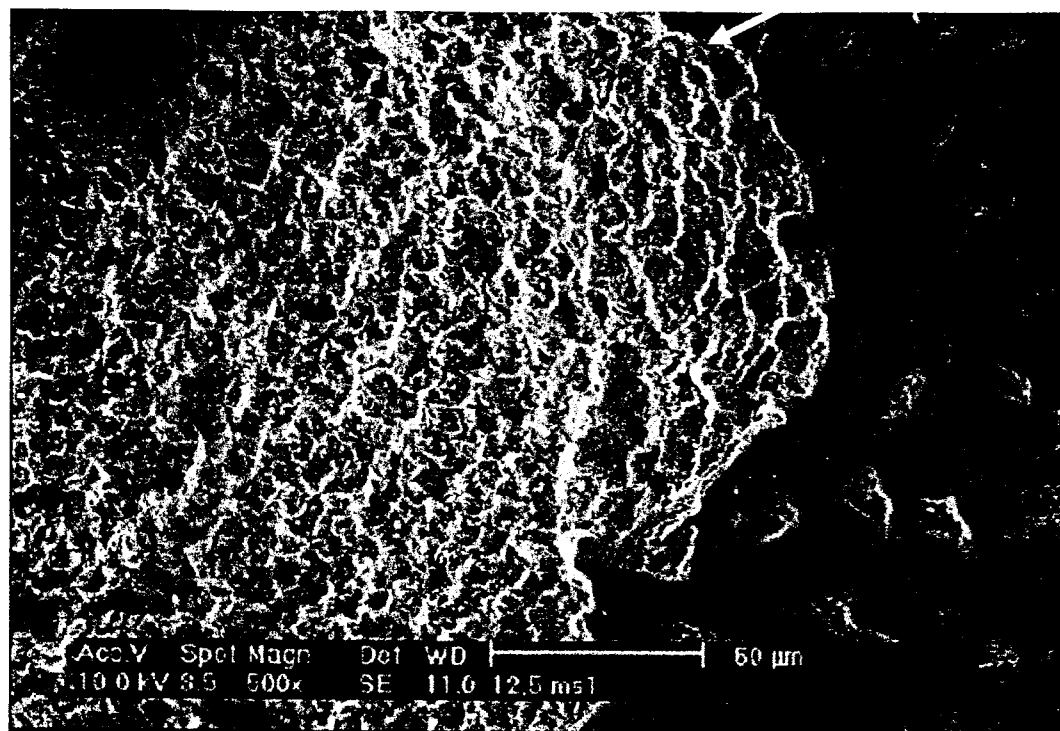


FIGURA 21 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 5 ($9,3 \text{ J/cm}^2$ por pulso). Seta indica área de ablação.

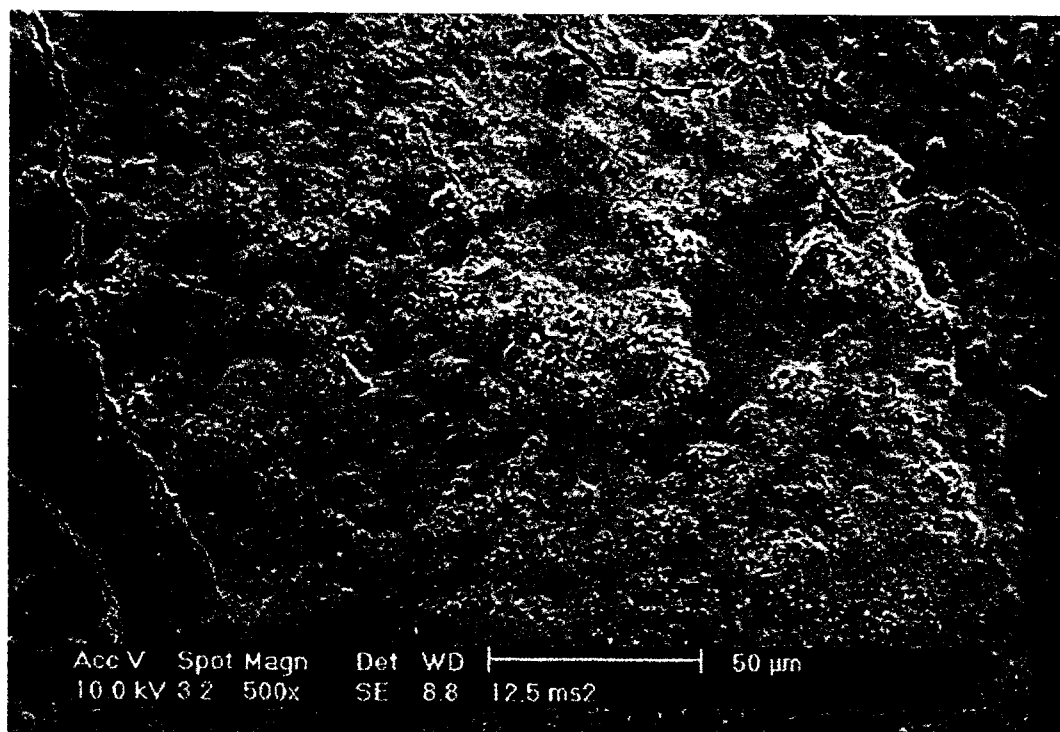


FIGURA 22 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 5 ($9,3 \text{ J/cm}^2$ por pulso).

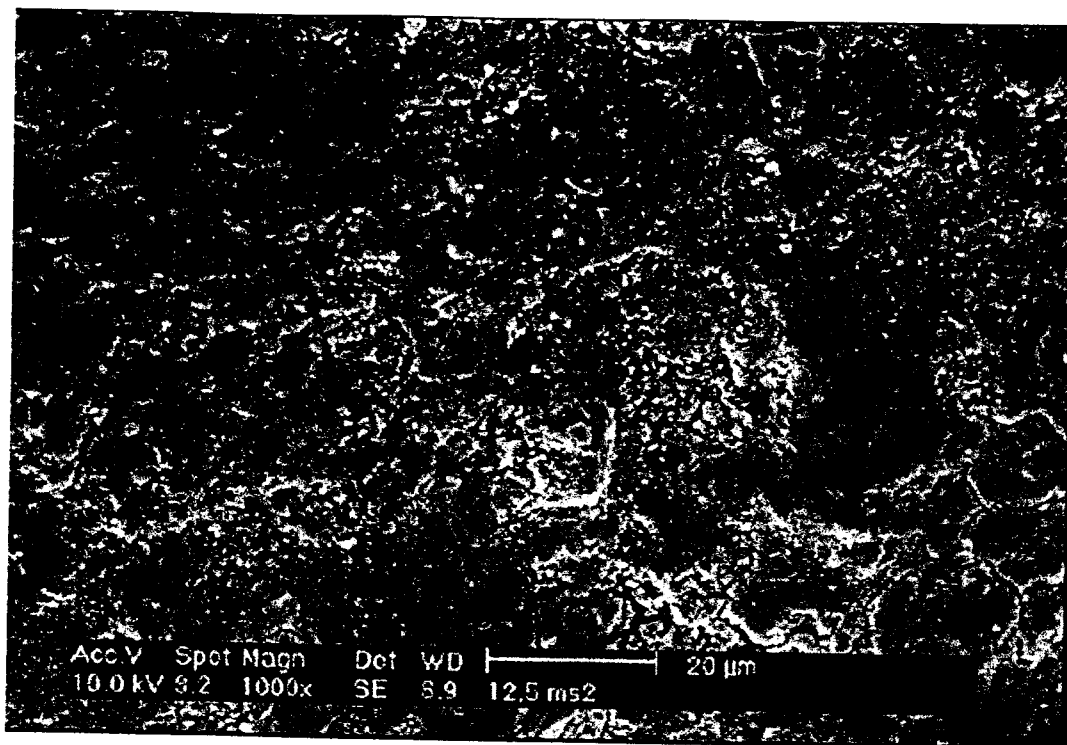


FIGURA 23 - Elétron-micrografia de amostra irradiada com o parâmetro 5 ($9,3 \text{ J/cm}^2$ por pulso).

As médias das alterações de temperatura ocorridas segundo o tempo de irradiação de 10, 15, 20, 25 e 30 segundos estão apresentados na FIG. 11. Na TAB. 7 apresenta-se a média do aumento de temperatura induzido pela irradiação, em cada uma destas condições utilizadas.

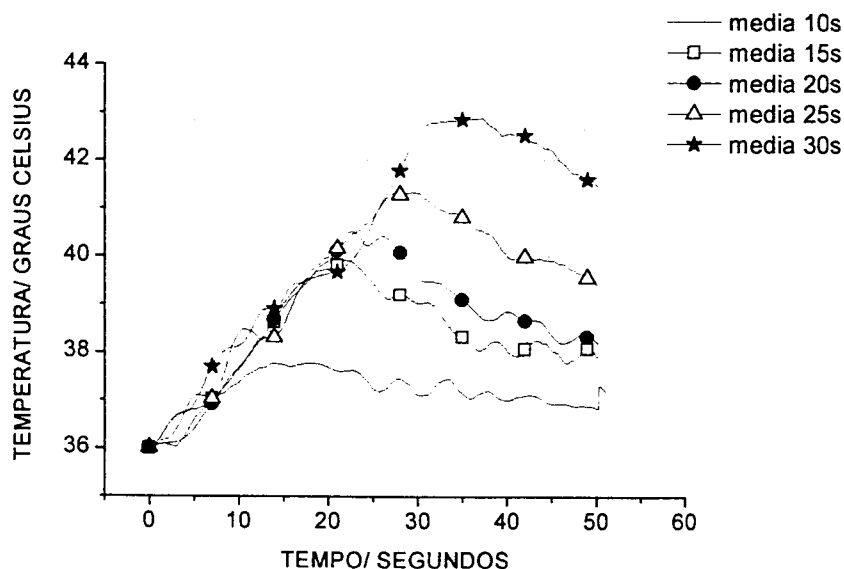


FIGURA 24 - Médias das alterações de temperatura mensuradas em função do tempo para cada tempo de exposição do laser (diferenciados pelos símbolos). Cada média corresponde a 503 medidas registradas pelo osciloscópio.

TABELA 7 - Médias dos aumentos de temperatura registrados em cada duração de exposição do laser.

Tempo de irradiação (s)	Aumento de temperatura (°C)	dp(yEr±)
10	1,8	0,244
15	3,7	0,214
20	4,6	1,27
25	5,4	0,512
30	7	0,461

As alterações de temperatura promovidas pela irradiação do laser de diodo nas diferentes condições de irradiação (intervalos de tempo entre a aplicação do absorvedor e do laser de 5, 30, 60, 90, 120 e 5 segundos) estão ilustradas na FIG. 25 e os valores de aumento de temperatura estão apresentados na TAB. 8.

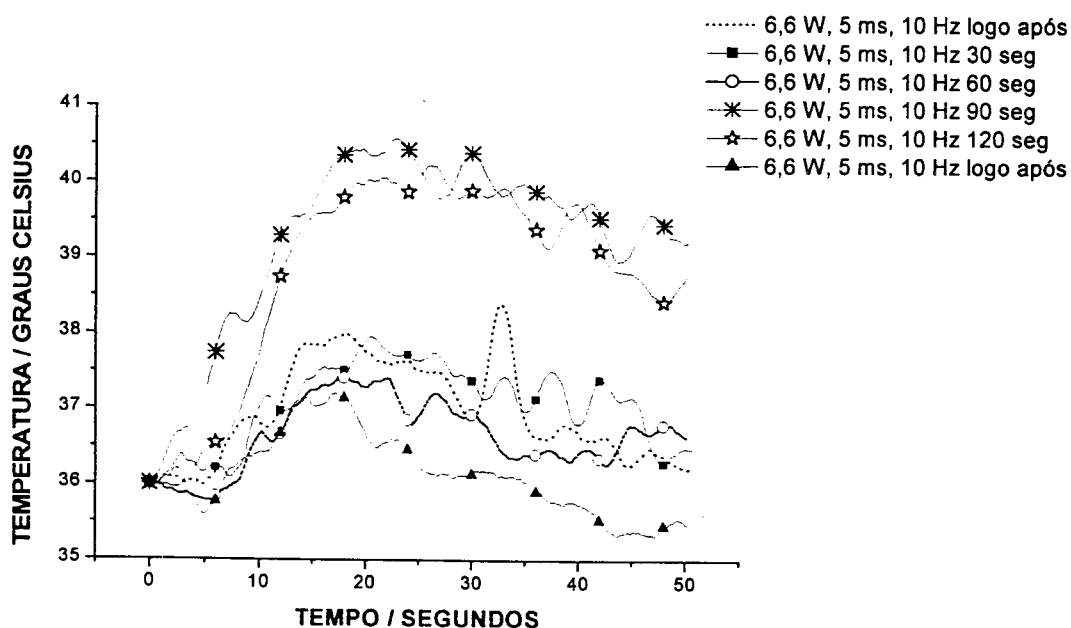


FIGURA 25 - Gráfico das alterações de temperatura ocorridas em cada uma das seis irradiações (com intervalos de tempo de 5, 30, 60, 90, 120 e 5 segundos após a aplicação do absorvedor). Cada média corresponde a 503 medidas registradas pelo osciloscópio.

TABELA 8 - Alterações de temperatura registradas em cada irradiação.

Intervalo de tempo (s)	Aumento de temperatura (°C)
5	1,2
30	1,4
60	2
90	4,6
120	4,2

Nas análises realizadas pelo ICP-AES, os valores mínimo e máximo encontrados em cada grupo foram descartados, restando treze dados por grupo. Na TAB. 9 e na FIG. 26 são mostradas as médias e os desvios padrão dos cinco grupos.

TABELA 9 - Médias e desvios padrão dos valores de cálcio mensurados nas amostras de ácido láctico e porcentagem de redução na perda mineral em relação ao controle. Os grupos que apresentam símbolos diferentes (* ou **) apresentaram diferença estatística.

	Média (ppm)	sd ($\bar{y} \pm s$)	% redução
C *	12,4	4,37	0
F **	8,23	3,23	33,6
L *	13,9	3,41	-12,0
LF **	9,18	3,34	26,0
FL **	8,18	3,56	34,0

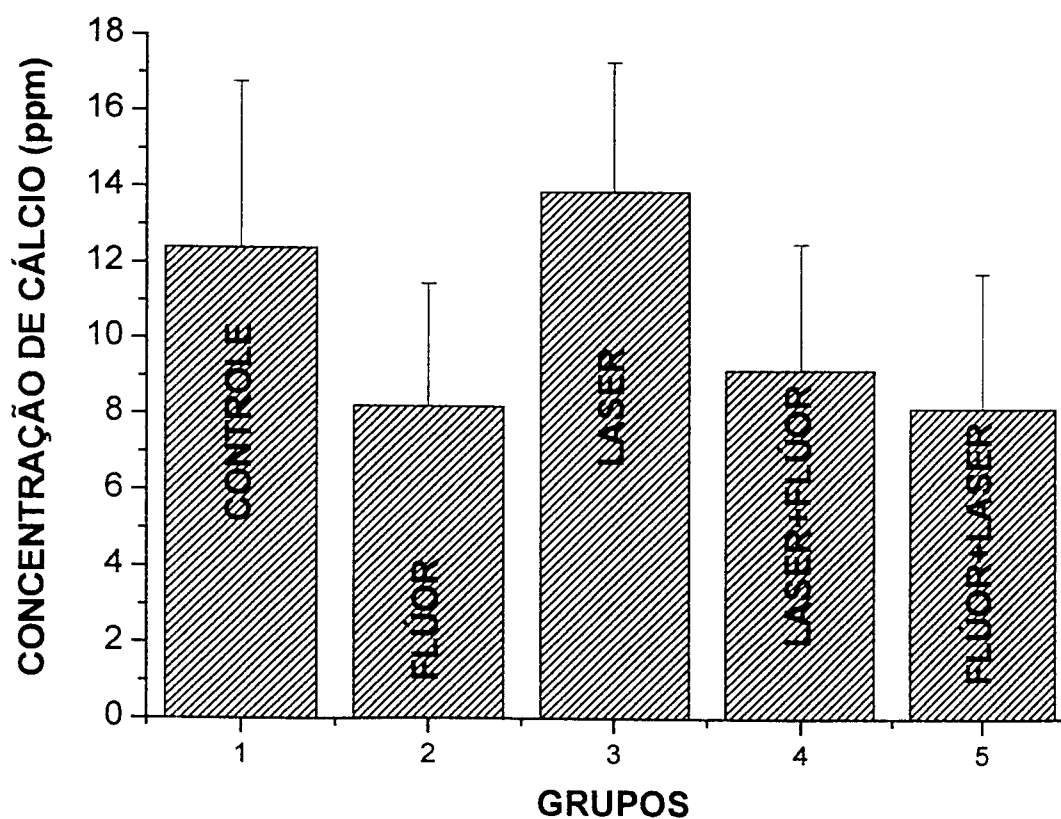


FIGURA 26 – Gráfico das médias e desvios padrão da quantidade de cálcio medido em cada grupo.

4.2.3 DISCUSSÃO

Os ensaios de temperatura foram conduzidos em incisivos centrais inferiores em virtude deste elemento dental apresentar a menor área e, possivelmente, sofrer aumentos de temperatura no interior da câmara pulpar maiores quando comparado a outros elementos. Em relação às aplicações para prevenção de cárie, o laser pode ser indicado para aumentar a resistência à desmineralização em todos os dentes que receberão tratamento ortodôntico (Anderson *et al.*, 2002), fato que justifica a aferição de temperatura induzida pelo laser de diodo neste elemento dental.

Poucos estudos foram encontrados na literatura abordando a aplicação do laser de diodo em alta intensidade sobre o esmalte dental, e apenas dois deles aferiram a temperatura no interior da câmara pulpar. Quinto Jr. (2001) avaliou cinco diferentes parâmetros do mesmo laser de diodo escolhido para este estudo. Entretanto, utilizou uma fibra de 365 μm de diâmetro e o nanquim como substância absorvedora. O autor observou que a diminuição da taxa de repetição de 10 Hz para 1,5 Hz, com o aumento do tempo de irradiação de 15 segundos para 100 segundos, utilizando uma mesma densidade de energia por pulso, levou a uma diminuição da temperatura intrapulpar de 6,4 °C para 3,3 °C. Arrastia (1994) avaliou o aumento de temperatura intrapulpar de 18 parâmetros de diferentes comprimentos de onda do laser de diodo. Entretanto a comparação dos resultados obtidos pelos autores com os apresentados neste estudo é limitada em virtude da diferença na metodologia adotada em cada trabalho. Os autores não utilizaram um agente absorvedor por não visarem o aumento da absorção da luz laser pelo tecido dentário. De acordo com os resultados obtidos por um estudo piloto realizado com o laser de diodo de 960 nm, o aumento de temperatura obtido no interior da câmara pulpar de um molar decíduo na ausência de um cromóforo absorvedor ou na presença de nanquim ou carvão é diferente.

Os resultados apresentados na TAB. 6 mostram que apenas o parâmetro 5 (6,5 W, 12,5 ms, 10 Hz, 9,3 J/cm²) acarretou em aumentos de temperatura superiores a 5,5 °C, valor considerado seguro (Zack & Cohen, 1965). Entretanto, nas condições de irradiação 1 e 2

(TAB. 4), cujas densidades de energia por pulso são 1,8 e 3,7 J/cm² respectivamente, as alterações em todas as irradiações não ultrapassaram 2 °C. Malmstrom *et al.* (2001) realizaram um estudo de aferição de temperatura intrapulpar com o laser de CO₂ de 10,6 µm nas seguintes condições: fluência por pulso de 1,2 a 2,6 J/cm², taxa de repetição de 120 a 1000 Hz, duração do pulso de 100 a 200 ms e tempos de irradiação de 0,1 a 1 segundos. Os autores observaram que o aumento de temperatura máximo registrado na câmara pulpar, com a irradiação efetuada no esmalte dental foi de 3 °C. As irradiações efetuadas com 1,8 J/cm² por pulso, total de 100 pulsos, 1000 Hz e 0,1 segundos de exposição promoveram a formação de cratera e na condição de 2,6 J/cm² por pulso, 100 pulsos no total, 200 Hz e 0,5 s de irradiação houve a formação de uma superfície fusionada. Condições de irradiação semelhantes (densidades de energia) foram utilizadas para o laser de diodo no presente estudo (TAB. 4), entretanto não foram promovidas essas alterações morfológicas. Esta diferença está relacionada às características de absorção de cada comprimento de onda pelos componentes do esmalte dentário. O laser de CO₂ de 10,6 µm utilizado no estudo de Malmstrom *et al.*, por ser mais absorvido pelo esmalte que o comprimento de onda de 960 nm, necessita de menos energia para promover alterações morfológicas.

O parâmetro 2 (3,7 J/cm²) foi escolhido para a determinação das demais condições de irradiação (tempo de exposição e intervalo entre as aplicações do absorvedor e do laser) e para a análise da resistência à desmineralização devido aos resultados apresentados nos ensaios de temperatura (TAB. 6) e morfologia (FIG. 18). O aumento da temperatura intrapulpar inferior a 2 °C, como registrado na irradiação com este parâmetro, não induz a reações teciduais, permanecendo o tecido pulpar com características histológicas idênticas ao tecido não aquecido (Zack & Cohen, 1965). Apesar do parâmetro 1 (1,8 J/cm²) ter apresentado o menor aumento de temperatura no interior da câmara pulpar, foi escolhido o parâmetro 2 para garantir um maior aquecimento da superfície de esmalte e assim, promover alterações que poderiam acarretar numa menor desmineralização deste tecido. Em relação aos parâmetros 3 (5,6 J/cm²) e 4 (7,4 J/cm²), foram promovidas alterações morfológicas (FIG. 19 e 20) não adequadas para aumentar a resistência ácida. Ao contrário, as áreas de ablação poderiam facilitar a adesão de bactérias à superfície do esmalte.

A perda de porções superficiais do esmalte irradiado com 3,7 J/cm² (parâmetro 2) ocorreu provavelmente devido ao aquecimento da água contida no interior do esmalte, com

conseqüente formação de bolhas e rompimento destas superfícies. Entretanto, não foram observadas imagens compatíveis com as características de fusão do esmalte dentário e por isso sabe-se que o aumento de temperatura na superfície irradiada com este parâmetro foi inferior a temperatura de fusão. As análises da morfologia do esmalte, após a irradiação com as cinco condições de irradiação utilizadas neste estudo (FIG. 16 a 23), demonstraram que a aplicação do laser de diodo com o carvão vegetal como absorvedor não permitiu a obtenção de parâmetros seguros que promovam a fusão do esmalte. Apesar de uma das teorias a respeito do potencial do laser na prevenção de cárie se basear nas alterações ocorridas com a fusão do esmalte dental (Tagomori & Iwase, 1995), há também relatos demonstrando o efeito preventivo promovido pela irradiação do laser na ausência de fusão (Hsu *et al.*, 2000; Hsu *et al.*, 2001). Segundo Kuroda & Fowler (1984) a fusão do esmalte ocorre provavelmente a temperaturas superiores a 1400 °C. A utilização de parâmetros que promovam aquecimentos desta magnitude pode promover uma menor redução na desmineralização devido à perda de matriz orgânica (Featherstone & Rosenberg, 1984), que se decompõe e evapora entre 400 e 800 °C (Holcomb & Young, 1980), e à formação de compostos mais solúveis no esmalte dental (Fowler & Kuroda, 1986).

Em todas as irradiações efetuadas com o tempo de duração de 10 ou 15 segundos, o aumento de temperatura promovido foi inferior a 5,5 °C (TAB. 7). Apesar da média para o tempo de irradiação de 20 segundos ser inferior a esta mesma temperatura, uma das medidas foi registrada acima deste valor. Entretanto apenas o tempo de irradiação de 10 segundos provocou um aumento de temperatura inferior a 2,2 °C.

Em relação aos diferentes intervalos de aplicação do laser utilizados pode-se observar que, apesar de todos terem promovido aumentos seguros de temperatura na câmara pulpar, nas aplicações efetuadas após 60 segundos o aumento de temperatura foi significativamente maior (TAB. 8). Provavelmente este limiar esteja relacionado à evaporação do veículo, pois aos 90 segundos o carvão apresentava-se mais seco. Estes resultados demonstram que a mistura constituída de carvão e solução fisiológica apresenta um tempo de trabalho adequado para a utilização clínica, podendo ser irradiada seguramente até 60 segundos após a sua aplicação na superfície dental.

A manutenção da distância entre a fibra e a superfície do elemento dental foi visual e a sua movimentação sobre a superfície do esmalte foi realizada manualmente, o que

podia acarretar numa maior ou menor proximidade da fibra durante a irradiação e, portanto, em variações na densidade de energia. Entretanto, esta metodologia foi adotada para melhor simular uma aplicação clínica.

Na literatura é reportado o uso do flúor fosfato acidulado (Morioka *et al.*, 1988; Anderson *et al.*, 2000; Boari, 2000; Santos *et al.*, 2001), do fluoreto de sódio (Anderson *et al.*, 2000; Hsu *et al.*, 2001; Apel *et al.*, 2002), do verniz de flúor (Huang *et al.*, 2001; Santaella *et al.*, 2003) e do fluoreto diamínico de prata (Hossain *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2001) como agentes tópicos associados à aplicação do laser. Devido ao manchamento da estrutura dental causado pelo fluoreto diamínico de prata e da dificuldade na remoção do verniz de flúor da superfície de esmalte, estes dois agentes foram desconsiderados para o estudo. A escolha pelo flúor fosfato acidulado foi baseada nos resultados obtidos por Guimarães *et al.* (2000) que observaram que o flúor fosfato acidulado leva a uma maior formação de fluoreto de cálcio, e por Tagomori & Morioka (1989), que demonstraram que a associação do laser ao flúor fosfato acidulado promove maior resistência que a associação ao fluoreto de sódio. Na literatura há relatos que reportam a maior eficiência na aplicação do flúor posterior (Tagomori & Morioka, 1989) e anterior à irradiação (Santos *et al.*, 2001). Por este motivo, o presente estudo adotou as duas metodologias de aplicação deste material.

Em relação aos métodos de avaliação da resistência do esmalte dental a desmineralização por substâncias ácidas, através da quantificação de íons, a literatura relata basicamente três tipos de metodologia: métodos que avaliam a perda de cálcio do esmalte por meio de análises da solução ácida utilizada para induzir a desmineralização (Bahar & Tagomori, 1994; Tagomori & Iwase, 1995; Yu *et al.*, 2001; Apel *et al.*, 2002), métodos que determinam a relação dos íons cálcio e fósforo (Ca/P) presentes no esmalte após tratamento (Takahashi *et al.*, 1998; Eduardo, 2001) e método que quantifica a perda mineral na amostra após tratamento (Featherstone *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000; Hsu *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2001). Takahashi *et al.* (1998) avaliaram as alterações na concentração de cálcio e fósforo por meio do método de Microanálise por Energia Dispersiva de Raio-X (EDS) associado à Microscopia Eletrônica de Varredura. Eduardo (2001) utilizou a mesma metodologia, entretanto a técnica escolhida pelos autores foi a Espectrometria de Fluorescência de Raio – X. Featherstone *et al.* (1998), Hsu *et al.* (2000), Hsu *et al.* (2001), Santos *et al.* (2001) optaram pela análise por meio de microradiografias que permite a mensuração da profundidade da

lesão de cárie e da quantidade de mineral perdido pela estrutura dental. Para a realização deste estudo foi escolhida a metodologia que se baseia na quantificação do íon cálcio na solução desmineralizadora devido à sensibilidade da técnica analítica obtida pelo ICP-AES na leitura do cálcio ser alta, em torno de 0,07 ng/ml (Harris, 2001) e à disponibilidade do equipamento para a realização do trabalho.

O potencial da radiação laser, associado ou não à aplicação tópica de flúor, em aumentar a resistência à desmineralização do esmalte é reportado em inúmeros estudos (Goodman & Kaufman, 1977; Tagomori & Morioka, 1989; Bahar & Tagomori, 1994; Featherstone *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000; Boari, 2000; Hsu *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2001; Santaella *et al.*, 2003). No entanto, os resultados obtidos pelas análises ao ICP-AES neste estudo demonstraram que a aplicação somente do laser de diodo com densidade de energia de 3,7 J/cm² não aumentou a resistência do esmalte em relação ao controle. Apesar dos grupos F, LF e FL terem apresentado maior resistência que o controle, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Resultados semelhantes foram obtidos por Yu *et al.* (2001) com o laser de diodo de 830 nm. Os autores observaram que as concentrações de cálcio perdido das amostras de esmalte tratadas somente com Ag(NH₃)₂F ou associadas à irradiação eram significativamente menores que nos espécimes controle. Entretanto, estes dois grupos não apresentaram diferenças entre si. Apel *et al.* (2002) obtiveram resultados semelhantes com os lasers de Er:YAG e Er:YSGG. Os autores observaram que apenas o tratamento com o laser não diminuiu de modo significativo a solubilidade do esmalte e, que o tratamento com flúor ou a sua associação ao laser, apesar de induzirem a uma maior resistência ácida, não apresentaram diferenças significativas.

Santaella *et al.* (2003) também observaram que a associação do laser de diodo (809 nm) ao flúor tópico (verniz de flúor) não aumentou a resistência em relação ao tratamento somente com flúor. No entanto, a resistência obtida pelas amostras tratadas apenas com o laser foi superior ao grupo controle. Este resultado diverge dos obtidos no presente estudo provavelmente em virtude da diferença entre os parâmetros utilizados. Os autores trabalharam com uma maior energia (140 mJ) e maior taxa de repetição (50 Hz) e provavelmente promoveram um maior aquecimento na superfície de esmalte, causando alterações que diminuiriam a solubilidade do esmalte. Anderson *et al.* (2000) observaram que a irradiação com o laser de Argônio com densidade de energia de 11,5 J/cm² promoveu um

aumento significativo na resistência à desmineralização no esmalte, apenas quando foi associado ao fluoreto de sódio. A porcentagem de inibição relatada foi de 29%. Entretanto os autores não avaliaram os efeitos do tratamento realizado apenas com o flúor. Na literatura é relatado que a porcentagem de inibição alcançada com o tratamento do esmalte com um agente de flúor tópico *in vitro* varia de 21 a 27,8 % (Tagomori & Morioka, 1989; Hsu *et al.*, 2001; Apel *et al.*, 2002) e *in vivo* varia de 23 a 39,5% (Hagen & Bowden, 1985; Ripa, 1991; Pinto, 1993). No presente estudo a inibição na desmineralização obtida no grupo F (33,6 %) está de acordo com os valores relatados na literatura. Entretanto, os valores obtidos nos grupos LF (26%) e FL (34%) demonstram que a associação do laser de diodo ao flúor não promoveu resultados superiores ao F e que a irradiação com o laser de diodo provavelmente não aumentou a retenção de flúor no esmalte.

Foi realizado um ensaio de temperatura da superfície de esmalte (ANEXO D), coberta pelo agente absorvedor, utilizando uma câmera termográfica e a aplicação do laser nas condições utilizadas para o experimento de resistência à desmineralização (3,7 J/cm²). Os valores de temperatura máximos registrados foram inferiores a 100°C. Entretanto, por meio da análise morfológica da superfície irradiada verificou-se a presença de áreas de esfoliação ou ablação superficial do esmalte (FIG. 18). Para que estas alterações tenham ocorrido, a água contida na camada superficial do esmalte teve que ser aquecida a pelo menos 100 °C. Para compreender as divergências apontadas, algumas considerações são necessárias. A taxa de repetição da câmera termográfica foi ajustada em 60 Hz, ou seja, as imagens foram registradas a cada 0,017 segundos (17 ms). Entretanto, o tempo de duração do pulso do laser de diodo foi de 5 ms. Portanto, a temperatura máxima alcançada na superfície irradiada pode não ter sido registrada pela câmera.

Considerando-se que o aumento mínimo de temperatura na superfície foi de 100 °C, é esperado que ocorram alterações que resultem na diminuição da solubilidade do esmalte. Sato (1983) demonstrou que o aquecimento de amostras de esmalte a 100 °C promove uma diminuição na profundidade de lesões de cárie artificiais e na quantidade de cálcio dissolvido. Entre 300 e 350 °C este aumento de resistência à desmineralização atinge valores máximos. Da mesma forma, Hsu *et al.* (1994) demonstraram que a partir de 150 °C o produto da atividade iônica do esmalte humano é menor que no esmalte não aquecido. Holcomb and Young (1980) relataram que a perda de carbonato se inicia em torno de 100 °C. Entretanto,

apesar de não haver uma diferença significativa no conteúdo de cálcio dissolvido nos grupos C e L, no grupo laser a quantidade mineral mensurada foi 12% maior que no controle. Para compreender as possíveis causas deste resultado, alguns aspectos devem ser discutidos. O cromóforo absorvedor, por ser constituído de uma mistura de carvão vegetal e solução fisiológica, apresentava partículas que não foram dissolvidas pelo veículo. É possível que não tenha havido um íntimo contato entre as partículas de carvão e a superfície de esmalte impedindo ou limitando a transferência do calor do absorvedor para a amostra. Além disso, a presença do líquido no absorvedor pode ter contribuído para a diminuição da transferência do calor. Conforme discutido anteriormente, o intervalo de tempo entre a aplicação do absorvedor e a irradiação interfere no aumento de temperatura na câmara pulpar (FIG. 25 e na TAB. 8) provavelmente devido à quantidade de água presente na camada do absorvedor (maior ou menor evaporação). Foi demonstrado que com intervalos de tempos maiores a temperatura é maior, pois na ausência da água ocorre maior transferência de calor para a amostra. Em outras palavras, o calor que poderia ser transmitido do carvão para o dente é em parte absorvido pela água do absorvedor. Outro fator importante no aquecimento da superfície de esmalte é que o aquecimento da água e conseqüente evaporação provocam a remoção do carvão da superfície irradiada, como foi observado durante as irradiações realizadas, diminuindo também a transferência do calor. Outro aspecto a ser considerado é que a condição de irradiação utilizada promoveu a esfoliação de algumas porções do esmalte, como é mostrado na FIG. 18. Nas regiões onde ocorreram estas alterações houve exposição de uma camada interior de esmalte, que provavelmente não foi aquecida o suficiente para que sofresse alterações físicas ou químicas. Além disso, esta camada mais interna apresenta maior solubilidade que as porções superficiais (Larsen & Bruun, 1995).

Apesar dos lasers de diodo possuírem um comprimento de onda muito próximo do laser de Nd:YAG, suas características os diferem deste laser. Os lasers de diodo que emitem no modo quasi-contínuo (qcw) apresentam tempo de duração de pulso mínimo da ordem de milisegundos e potência pico máxima muito inferior aos lasers de Nd:YAG. Em outras palavras, não é possível aplicar uma alta energia em um curto período de tempo, semelhante aos lasers pulsados, quando se utiliza este tipo de laser de diodo. Este fato pode limitar a aplicação deste tipo de laser no esmalte dentário, especialmente quando é desejado um rápido aquecimento da estrutura dental com valor superior a 100 °C.

Embora tenha sido demonstrado neste trabalho que a irradiação com laser de diodo não promoveu aumento na resistência à desmineralização, não é possível afirmar que este comprimento de onda não possa ser indicado para esta aplicação. Na literatura há relatos de estudos que obtiveram resultado satisfatório (Santaella *et al.*, 2003; Young *et al.*, 2000; Blankenau *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 2002) ou não (Yu *et al.*, 2001; Apel & Gutknecht, 2003; Apel *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 2000; Haider *et al.*, 1999, Tsai *et al.*, 2002) utilizando um mesmo comprimento de onda, em diferentes condições de irradiação. Entretanto, devem ser consideradas as características de emissão deste laser. Novas pesquisas a respeito dos parâmetros que promovam o aquecimento desejado na superfície de esmalte e de adequação do cromóforo absorvedor são necessárias para se avaliar o potencial preventivo deste laser.

4.2.4 CONCLUSÕES

A irradiação de amostras de esmalte dental humano com o laser de diodo de 960nm, conforme metodologia utilizada neste estudo, não promoveu um aumento da resistência à desmineralização. Quando associado ao flúor fosfato acidulado, o aumento da resistência não foi significativamente diferente do resultado obtido com a aplicação apenas do flúor.

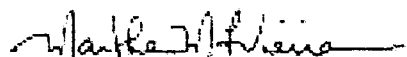
ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO IPEN



Parecer - Projeto Nº 045/CEP-IPEN/SP

Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa "Determinação da eficácia do tratamento laser e flúor tópico para fissuras preventivas", de responsabilidade do pesquisador Nikolaus Ursus Weller, foi considerado APROVADO.

São Paulo, 23 de agosto de 2002


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

IPEN-CNEN/SP
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Travessa "R", Nº 400 - Cidade Universitária - CEP 05389-800 - São Paulo - SP
Telefone: (011) 3815-8381 - Fax: (011) 3815-0123
E-mail: mfv@ipen.br

ANEXO B – AVALIAÇÃO DE TEMPERATURA NO INTERIOR DA CÂMARA PULPAR DURANTE IRRADIAÇÃO COM O LASER DE DIODO E ABSORVEDOR COMPOSTO DE CARVÃO VEGETAL E ETANOL 50%

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar as alterações de temperatura na câmara pulpar promovidas pelo laser de diodo (960 nm), segundo diferentes parâmetros de aplicação, utilizando o carvão vegetal diluído em etanol 50 % como agente absorvedor.

Um incisivo central inferior foi preparado conforme metodologia descrita no tópico 4.1.1. Durante a irradiação o elemento dental foi mantido à 36 °C pelo conjunto composto pela massa de modelar (descrito no tópico 4.1.1). O equipamento de registro de dados utilizado foi o osciloscópio digital.

Previamente a cada irradiação foi aplicada uma camada de carvão vegetal diluído em etanol 50% sobre a superfície de esmalte. Durante a irradiação, a fibra permaneceu posicionada levemente inclinada e a 1mm de distância da superfície do esmalte, varrendo toda a área a ser irradiada. Os parâmetros utilizados estão apresentados na TAB. 10.

TABELA 10 – Parâmetros de irradiação.

Parâmetro	Potência pico (W)	Largura Temporal (ms)	Taxa de Repetição (Hz)	Fluência por pulso (J/cm ²)
1	7,2	12,5	10	10,25
2	7,2	10	10	8,2
3	7,2	7,5	10	6,15
4	6,6	5	10	3,76
5	6,6	2,5	10	1,88

Foram realizadas três, uma, quatro, duas e uma medições para cada parâmetro respectivamente. A irradiação foi realizada sempre na mesma área e o tempo de aplicação foi de 10 segundos.

Na FIG. 27 são apresentadas as alterações de temperatura em função do tempo registradas em todas as irradiações.

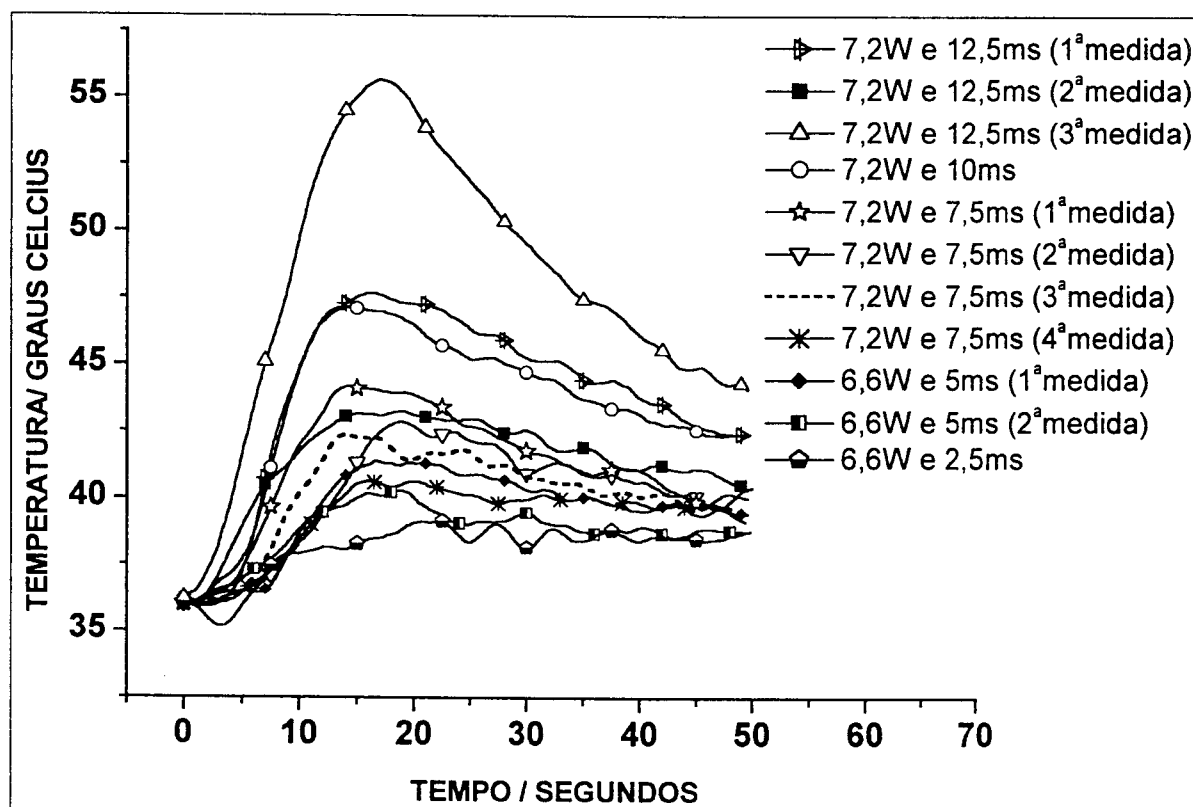


FIGURA 27 - Gráfico das alterações de temperatura em função do tempo observadas em cada irradiação (diferenciados pelos símbolos). Cada média corresponde a 405 medidas registradas pelo osciloscópio.

O parâmetro 1 ($10,25 \text{ J/cm}^2$) foi utilizado em três irradiações (FIG. 27). Na primeira e na terceira o laser foi aplicado sobre uma camada espessa e seca de carvão. Na segunda irradiação, o laser foi aplicado sobre uma camada de carvão mais fino e úmido e o aumento de temperatura registrado foi menor que nas outras duas irradiações. Provavelmente estas características do absorvedor causaram as diferenças de temperatura observadas nas três irradiações realizadas com este parâmetro (FIG. 27). Esta variação de temperatura também foi observada nas irradiações com o parâmetro 3 ($6,15 \text{ J/cm}^2$). Na 1ª e na 2ª medição, o carvão foi diluído em uma menor quantidade de etanol, o que levou a uma camada mais espessa sobre o esmalte, e o laser foi aplicado após a evaporação do veículo. Na 3ª e na 4ª medição foi

realizada uma limpeza da superfície do esmalte dental antes da aplicação da camada de carvão, a espessura desta camada aplicada foi mais fina e a superfície foi irradiada antes da secagem do iniciador de absorção.

Com base nos resultados e observações obtidas neste ensaio laboratorial, foi possível concluir que:

- A diluição do carvão (quantidade do pó de carvão por volume do líquido) é um fator determinante para a espessura da camada do fotoiniciador aplicado (maior volume do líquido, menor a espessura da camada), fato que está diretamente relacionado ao aumento de temperatura (menor espessura, menor temperatura);
- O etanol provavelmente não é o veículo mais apropriado para a utilização em conjunto com o carvão vegetal, pois este líquido é extremamente volátil, o que impede a padronização de uma correta proporção.

ANEXO C – ENSAIO NO ESPECTRÔMETRO DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIO-X

Este ensaio foi realizado com o objetivo de comparar a resistência à desmineralização de amostras de esmalte tratadas somente com verniz de flúor (Duraphat) ou associadas à irradiação com o laser de diodo.

Para a realização deste ensaio foram utilizados 6 espécimes de esmalte com dimensões de 2mm de largura, 5mm de comprimento e 2mm de altura, em regiões mais planas possíveis e livres da presença de lesão de cárie ou manchas brancas. Em cada espécime foram realizadas duas marcações, uma no meio, visando a divisão dos espécimes em duas metades e outra em um dos cantos, para a identificação da metade irradiada (FIG. 28) utilizando-se uma ponta montada em alta rotação. Os espécimes foram fixados em bases de resina composta para tornar a superfície a ser trabalhada paralela ao solo. A conservação das amostras foi feita em água destilada.

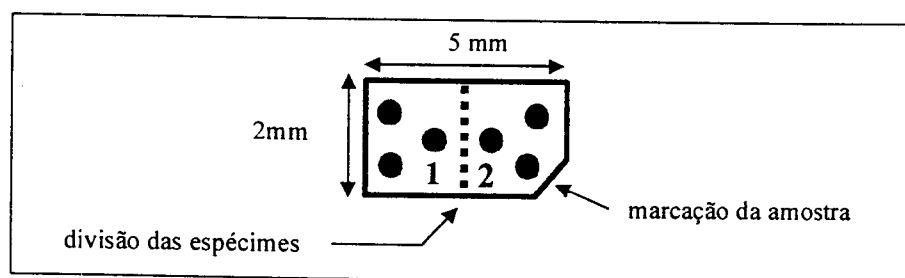


FIGURA 28 - Desenho esquemático das dimensões e da divisão das amostras. Os pontos pretos correspondem ao posicionamento aproximado das áreas de análise ao EDS.

Os espécimes de esmalte foram divididos em grupo controle, constituído pelas seis metades das amostras sem marcação tratadas com Duraphat por 12 horas e grupo irradiado, composto pelas seis metades das amostras com marcação tratadas com diodo laser e duraphat por 12 horas.

Previamente à irradiação das amostras do grupo irradiado foi aplicada uma camada de carvão vegetal dissolvido em álcool 50% sobre a superfície de esmalte destas amostras. Os parâmetros utilizados foram: energia por pulso de 93 mJ, taxa de repetição de 10 hertz, duração por pulso de 12,5 ms, potência média de 0,9375 W, potência pico de 7,5 W e fluência na superfície do esmalte de 5,45 Joules/centímetro². Durante a irradiação, a fibra permaneceu

posicionada levemente inclinada e a uma distância de 1mm da superfície do esmalte, varrendo toda a área a ser irradiada.

Terminado o tratamento as amostras foram imersas em 5 ml de uma solução de ácido láctico 0,1M e ph 4,8 durante 3 horas, sendo lavadas em seguida com água destilada.

Para a realização da análise semi-quantitativa por meio do Espectrômetro de energia dispersiva de raio-x (serie II, Noran Instruments), conduzida pela técnica responsável do laboratório de microscopia eletrônica de varredura do centro tecnológico da marinha, as amostras foram desidratadas em soluções etanólicas de concentração crescente de 70%, 80%, 90% e 100%, durante 30 minutos em cada solução. Em seguida as amostras permaneceram em uma capela sob papel de filtro por 15 minutos para promover a evaporação dos resíduos de etanol e foram fixadas em bases metálicas. Para permitir a condução do feixe de elétrons os espécimes foram recobertos com uma película de ouro-paládio em um aparelho de "sputtering". Em cada metade foram realizadas 3 medições (FIG. 28) da concentração de cálcio e fósforo numa área de 210 μm x 160 μm , escolhidos aleatoriamente sem considerar as alterações morfológicas.

O aparelho utilizado para esta análise fornece os valores de porcentagem em peso (TAB. 11) de cada elemento e os valores de contagem líquida (TAB. 12). Este último corresponde ao número de raios X que alcançam o detector em função do tempo. Pela comparação entre as razões de Ca/P obtidos pela porcentagem em peso e pela contagem líquida, em ambos os grupos, verifica-se que estas razões são menores nos valores fornecidos pela contagem líquida. Esta diferença existe em virtude da razão K.

TABELA 11 - Médias dos valores de porcentagem em peso para cada elemento e cada grupo.

	Média	Sd (yEr \pm)
P não irradiado	34,28	0,56
Ca não irradiado	65,72	0,56
P irradiado	32,42	0,82
Ca irradiado	67,57	0,84
Ca não irradiado/ P não irradiado	1,92	0,05
Ca irradiado/ P irradiado	2,09	0,08

TABELA 12 - Médias dos valores de contagem líquida para cada elemento e cada grupo.

	Média	Sd (yEr±)
Contagem líquida P não irradiado	22555,33	978,96
Contagem líquida Ca não irradiado	34288,4	671,64
Contagem líquida P irradiado	18518,8	2032,53
Contagem líquida Ca irradiado	30783,27	2369,27
Contagem líquida Ca não irradiado/ Contagem líquida P não irradiado	1,52	0,042
Contagem líquida Ca irradiado/ Contagem líquida P irradiado	1,67	0,070

A razão K é um fator de correção do aparelho que é feita sobre a contagem (contagem líquida) e que compara a contagem do elemento com um padrão interno do mesmo elemento.

Esta razão só não consegue fornecer valores absolutos corretamente, entretanto ela fornece os dados relativos entre os elementos medidos, como por exemplo, a razão Ca/P. Devido a este fator, os valores dados têm o seu total sempre em 100% (a soma dos valores de porcentagem em peso de cada elemento sempre resulta em 100%, ou seja, $Ca + P = 100\%$). Isto significa que a razão K não consegue eliminar a não homogeneidade de superfície e de volume (densidade) na contagem líquida.

A análise comparativa das razões Ca/P, por meio do t-test, comprovou que os valores obtidos nas metades irradiadas são significativamente maiores que nos controles ($p = 1.45858E-4$). Entretanto, esta metodologia foi abandonada, pois a análise semi-quantitativa dos elementos (razão entre a porcentagem em peso de cálcio e fósforo) não garante que houve menor perda de minerais durante o desafio ácido e não se sabe se a contagem líquida é uma contagem segura.

ANEXO D – AVALIAÇÃO DE TEMPERATURA NA SUPERFÍCIE DE ESMALTE POR MEIO DA TERMOGRAFIA

Este estudo piloto foi realizado pela Profa. Dra. Denise M. Zezell com o objetivo de avaliar o aumento de temperatura promovido pelo laser de diodo na superfície de esmalte e auxiliar na discussão dos resultados obtidos na etapa 2 deste trabalho (ensaio de avaliação da resistência à desmineralização).

O sistema de termografia utilizado foi composto por uma câmera termográfica (ThermaCAM SC 3000, Flir Systems AB, USA), um computador e o programa ThermaCAM researcher 2001. Previamente ao registro das imagens, foi realizada a calibração do sistema por meio do ajuste da temperatura inicial do ambiente para evitar a interferência na temperatura registrada no elemento dental. O sistema foi calibrado em relação à temperatura da sala, operadores que participaram do experimento, presença e posição dos equipamentos, posição do elemento dental, e a distância entre a lente e o dente foi mantida em 10 cm durante todo o ensaio. A taxa de repetição utilizada na câmera foi de 60 Hz. A câmera foi ajustada para registrar a temperatura da superfície do elemento dental e por isso, foi informada ao programa a emissividade do dente. As condições de irradiação e o absorvedor utilizado foram os mesmos do ensaio de resistência à desmineralização (potência pico 6,5 W, duração do pulso 5 ms, taxa de repetição de 10 Hz, fluência de $3,7 \text{ J/cm}^2$, tempo de irradiação de 10 segundos, tempo de intervalo entre a aplicação do agente iniciador e da irradiação de 30 segundos e o absorvedor constituído de carvão vegetal misturado à solução fisiológica). O elemento dental foi fixado sobre uma placa de peltier com massa de modelar de modo que a face vestibular da coroa do dente ficasse de frente para a lente da câmera (FIG. 28). A fibra foi posicionada a uma distância de aproximadamente 1 mm da superfície do esmalte e durante a irradiação foi mantida imóvel. No total foram realizadas 3 medições de temperatura.

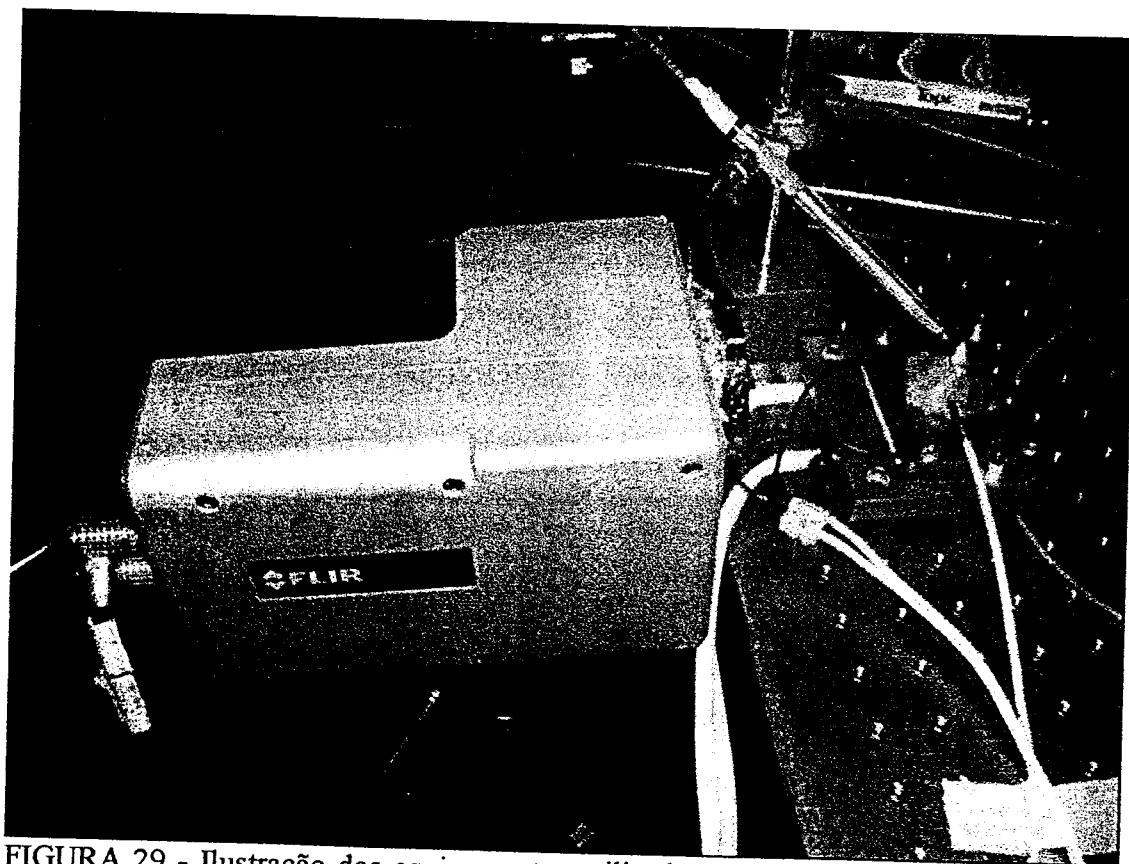


FIGURA 29 - Ilustração dos equipamentos utilizados na análise termográfica: câmera termográfica, elemento dental fixado sobre a placa de peltier e fibra do laser de diodo.

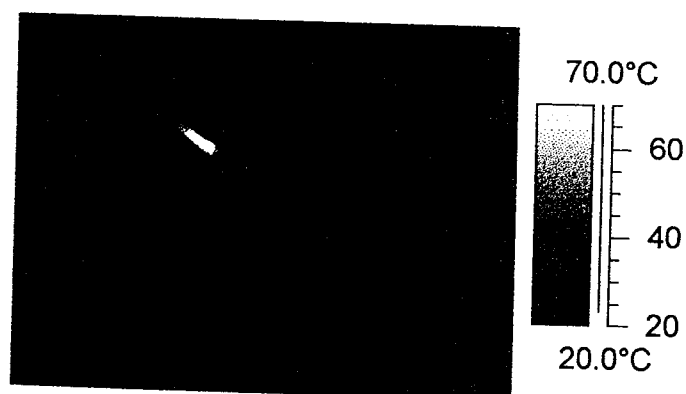


FIGURA 30 - Imagem registrada pela câmera termográfica no momento em que a temperatura máxima é alcançada na superfície do esmalte.

Na TAB.13 são mostrados os aumentos de temperatura máxima registrados na superfície do esmalte em cada irradiação. Os valores variaram provavelmente pelo fato da

fibra não ter sido mantida na mesma posição em todas as irradiações. A movimentação da fibra foi necessária para a aplicação do absorvedor antes de cada irradiação.

Na primeira irradiação o aumento de temperatura máximo registrado foi menor que nas demais irradiações. Ao analisar o filme foi observado que a imagem da fibra ficou sobreposta a uma parte da imagem do dente. Neste caso, a área de maior aquecimento pode ter sido encoberta pela fibra.

TABELA 13 – Aumento de temperatura máximo registrado na superfície do esmalte em cada irradiação.

Irradiação	Aumento de temperatura máximo (°C)
1	49,88
2	92,67
3	74,98

Um aspecto importante na utilização da termografia é a taxa de repetição da câmera. Neste ensaio a taxa de repetição foi ajustada em 60 Hz, ou seja, as imagens foram registradas a cada 0,017 segundos (17 ms). Entretanto, o tempo de duração do pulso do laser de diodo foi de 5 ms. Portanto, a temperatura máxima alcançada na superfície irradiada pode não ter sido registrada pela câmera.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIAN, J.C.; BERNIER, J.L.; SPRAGUE, W.G. Laser and the dental pulp. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 83, n.1, 113-117, 1971.

ANDERSON, J.R.; ELLIS, R.W.; BLANKENAU, R.J.; BEIRAGHI, S.M.; WESTERMAN, G.H. Caries resistance in enamel by laser irradiation and topical fluoride treatment. *J. Clin. Laser. Med. Surg.*, v. 18, n.1, p. 33-36, 2000.

ANDERSON, A.M.; KAO, E.; GLADWIN, M.; BENLI, O.; NGAN, P. Effects of argon laser irradiation on enamel decalcification: an in vivo study. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, v. 122, n.3, p. 251-259, 2002.

APEL, C.; MEISTER, J.; SCHIMITT, N.; GRABER, H.-G.; GUTKNECHT, N. Calcium solubility of dental enamel following sub-ablative Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation in vitro. *Laser Surg. Med.*, v.30, n. 5, p. 337-341, 2002.

APEL, C.; SCHÄFER, C.; GUTKNECHT, N. Demineralization of Er:YAG and Er:YSGG laser-prepared enamel cavities in vitro. *Caries Res.*, v. 37, n. 1, p. 334-37, 2003.

ARRASTIA, A.M.; MACHIDA, T.; SMITH, P.W.; MATSUMOTO, K. Comparative study of the thermal effects of four semiconductor lasers on the enamel and pulp chamber of a human tooth. *Laser Surg. Med.*, v. 15, n. 4, p. 382-289, 1994.

BAHAR, A.; TAGOMORI, S. The effect of normal pulsed Nd:YAG laser irradiation on pits and fissures in human teeth. *Caries Res.*, v. 28, n. 6, p. 460-467, 1994.

BAIK, J.W.; RUEGGERBERG, F.A.; LIEWEHR, F.R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise. *J. Esthet. Restor. Dent.*, v. 13, n. 6, p. 370-378, 2001.

BIBBY, B.G. Use of fluoride in the prevention of dental caries II. Effect of sodium fluoride applications. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 31, n. 4, p. 316-321, 1944.

BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.L.; ELLIS, R.W.; WESTERMAN, G.H. In vivo caries-like lesion prevention with argon laser: pilot study. *J. Clin. Laser. Med. Surg.*, v. 17, n. 6, p. 341-243, 1999.

BOARI, H. G. D. *Avaliação clínica da eficiência do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado na prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças e adolescentes*. 2000. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

BOWDEN, G.; EDWARDSSON S. Ecologia oral e a cárie dentária. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*. São Paulo, S.P.: Santos, 1995. p.25-69.

BRISENO, B.; ERNST, C.P.; WILLERSHAUSEN-ZONNCHEN, B. Rise in pulp temperature during finishing and polishing of resin composite restorations: an in vitro study. *Quintessence Int.*, v. 26, n. 5, p. 361-365, 1995.

CARLSSON, J.; HAMILTON, I. Atividade metabólica das bactérias orais. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*. São Paulo, S.P.: Santos, 1995. p.71-88.

CAVALCANTI, B.N.; OTANI, C.; RODE, S.M. High-speed cavity preparation techniques with different water flows. *J. Prosthet. Dent.*, v. 87, n. 2, p. 158-161, 2002.

CHANG, J.C.; WILDER-SMITH, P. Laser-induced thermal events in empty and pulp-filled dental pulp chambers. *Lasers Surg.Med.*, v. 22, n. 1, p. 46-50, 1998.

COLUZZI, D.J. An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dental Clin. North Am.*, v. 44, n. 4, p. 753-765, 2000. (viii)

CRUZ, R.; OGAARD, B.; ROLLA, G. Uptake of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF solution *in vitro*. *Scand. J. Dent. Res.*, v. 100, n. 3, p. 154-158, 1992.

EDUARDO, P. L. P. *Estudo in vitro das alterações morfológicas e químicas do esmalte dental bovino irradiado pelo laser de hólmio*. 2001. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

ERONAT, C.; ERONAT, N.; ALPOZ, A.R. Fluoride uptake by enamel in vitro following applications of various topical fluoride preparations. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v. 17, n. 4, p. 227-230, 1993.

FEATHERSTONE, J.D.B.; RODGERS, B.E. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res.*, v. 15, n. 5, p. 377-385, 1981.

FEATHERSTONE, J.D.; ROSENBERG, H. Lipid effect on the progress of artificial carious lesion in dental enamel. *Caries Res.*, v.18, n. 1, p. 52-55, 1984.

FEATHERSTONE, J.D.B.; BARRET-VESPONE, N.A.; FRIED, D.; KANTOROWITZ, Z.; SEKA, W. CO₂ laser inhibitions of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J. Dent. Res.*, v. 77, n. 6, p. 1397-1403, 1998.

FEATHERSTONE, J.D.B. The science and practice of caries prevention. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 137, n. 7, p. 887-899, 2000a.

FEATHERSTONE, J.D.B. Caries detection and prevention with laser energy. *Dent. Clin. North. Am.*, v. 44, n. 4, p. 955-969, 2000b.

FEJERSKOV, O.; THYLSTRUP, A. Ambiente oral – uma introdução. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*. São Paulo, S.P.: Santos, 1995a. p.13-16.

FEJERSKOV, O.; THYLSTRUP, A. Diferentes conceitos da cárie dentária e suas implicações. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*. São Paulo, S.P.: Santos, 1995b. p. 209-217.

FERREIRA, M.V.L.; ZECELL, D. M. *In vitro* study of hidroxiapatite and enamel powder fused in human enamel by Nd:YAG laser. In: CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR ORAL LASER APPLICATIONS, May 17-20, 2001, Vienna. *Abstracts...* Vienna.

FOWLER, B.O.; KURODA, S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif. Tissue Int.*, v. 38, n. 4, p. 197-208, 1986.

GOODMAN, B.D.; KAUFMAN, H.W. Effects of an argon laser on the crystalline properties and rate of dissolution in acid of tooth enamel in the presence of sodium fluoride. *J. Dent. Res.*, v. 56, n. 1, p. 1201-1207, 1977.

GOHARKHAY, K.; MORITZ, A.; WILDER-SMITH, P.; SCHOOP, U.; KLUGER, W.; JAKOLITSCH, S.; SPERR, W. Effects on oral soft tissue produced by a diode laser in vitro. *Lasers Surg. Med.*, v. 25, n. 5, p. 401-406, 1999.

GLOCKNER, K.; RUMPLER, J.; EBELESEDER, K.; STADTLER, P. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser compared to the conventional burr: an in vitro study. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v. 16, n. 3, p. 153-157, 1998.

GUIMARÃES, A. R. D.; MODESTO, A.; VIEIRA, A. R. Formation of alkali-soluble fluoride on the surface of human dental enamel after treatment with fluoridated gels: influence of the pH variation and the treatment time. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v. 24, n. 4, p. 303-307, 2000.

HAGEN, P.P.; BOWDEN, J.W. The caries preventive effects of full and half strength topical acidulated phosphate fluoride. *Pediatr. Dent.*, v. 7, n.3, p. 185-187, 1985.

HAIDER, S.M.; WHITE, G.E.; RICH, A. Combined effects of argon laser irradiation and fluoride treatments in prevention of caries-like lesion formation in enamel: an in vitro study. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v. 23, n. 3, p. 247-257, 1999.

HANNIG, M.; BOTT, B. In-vitro pulp chamber temperature rise during composite resin polymerization with various lighth-curing sources. *Dent. Mat.*, v. 15, n. 4, p. 275-281, 1999.

HARRIS, D. Espectroscopia atômica. In: CHARRIS, D. *Análise química quantitativa*. Rio de Janeiro, RJ: Livros técnicos e científicos, 2001. p. 527-549.

HOLCOMB, D.W.; YOUNG, R.A. Thermal decomposition of human tooth enamel. *Calcif. Tissue Int.*, v. 31, n. 3, p. 189-201, 1980.

HOSSAIN, M.M.I.; HOSSAIN, M.; KIMURA, Y.; KINOSHITA, J.-I.; SUZUKI, N.; MATSUMOTO, K. Caries - preventive effect of CO₂ laser irradiation with diamine silver fluoride solution. *J. Oral Laser Applic.*, v. 1, n. 1, p. 13-18, 2001.

HSU, J.; FOX, J.L.; HIGUCHI, W.I.; OTSUKA, M.; YU, D.; POWELL, G.L. Heat-treatment-induced reduction in the apparent solubility of human dental enamel. *J. Dent. Res.*, v. 73, n. 12, p. 1848-1853, 1994.

HSU, C.Y.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *J. Dent. Res.*, v. 79, n. 9, p. 1725-1730, 2000.

HSU, C.Y.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Laser-matrix fluoride effects on enamel demineralization. *J. Dent. Res.*, v. 80, n. 9, p.1797-1801, 2001.

HUANG G. F.; LAN, W. H.; GUO, M. K.; CHIANG, C. P. Synergistic effect of Nd:YAG laser combined with fluoride varnish on inhibition of caries formation in dental pits and fissures *in vitro*. *J. Formos. Med. Assoc.*, v. 100, n. 3, p. 181-185, 2001.

ISSA, A.I.; PRESTON, K.P., PRESTON, K.J.; DUGGAI, M.S. A study investigating the formation of artificial sub-surface enamel caries-like lesion in deciduous and permanent teeth in the presence and absence of fluoride. *Arch. Oral Biol.*, v. 48, n. 8, p. 567-571, 2003.

MEURMAN, J.H.; HEMMERLÉ, J.; VOEGEL, J.C.; RAUHAMAA-MÄKINEN, R.; LUOMANEN, M. Transformation of hydroxyapatite to fluorapatite by irradiation with high-energy CO₂ laser. *Caries Res.*, v. 31, n. 5, p. 397-400, 1997.

MOORE, G.L. Excitation sources. In: MOORE, G.L. *Introduction to inductively couple plasma atomic emission spectrometry*. Amsterdam: Elsevier Science, 1989a. p. 33-64.

MOORE, G.L. Inductively couple plasma atomic emission spectrometry. In: MOORE, G.L. *Introduction to inductively couple plasma atomic emission spectrometry*. Amsterdam: Elsevier Science, 1989b. p. 119-133.

MORIOKA, T.; TAGOMORI, S.; NARA, Y. Application of Nd: YAG laser and fluoride in prevention of dental caries. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASER IN DENTISTRY, 5-6 August, 1988, Tokyo. *Proceedings...* Tokyo: ISLD, 1988. p. 55 - 61.

MORITZ, A.; GUTKNECHT, N.; GOHARKHAY, K.; SCHOOP, U.; WERNISCH, J.; SPERR, W. In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence Int.*, v. 28, n. 3, p. 205-209, 1997.

MORITZ, A.; SCHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; SCHAUER, P.; DOERTBUDAK, O.; WERNISCH, J.; SPERR, W. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg. Med.*, V. 22, N. 5, P. 302-311, 1998.

NELSON, D.G.A.; JONGEBLOED, W.L.; FEATHERSTONE, J.D.B. Laser irradiation of human dental enamel and dentin. *N. Z. Dent. J.*, v. 82, n. 369, p. 74 - 77, 1986.

NEWBRUN, E. Conceitos atuais da etiologia da cárie. In: NEWBRUN, E. *Cariologia*. São Paulo, S.P.: Santos, 1988. p. 17-49.

NOLTE, W.A. Oral microflora. In: NOLTE, W.A. *Oral microbiology with basic microbiology and immunology*. St. Louis, MO.: C.V. Mosby, 1982. p.193-228.

NYBORG, H.; BRANNSTROM, M. Pulp reaction to heat. *J. Prosthet. Dent.*, v. 19, n. 6, p. 605-612, 1968.

NYVAD, B.; FEJERSKOV, O. Desenvolvimento, estrutura e pH da placa dental. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*. São Paulo, S.P.: Santos, 1995. p.89-110.

OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res.*, v. 24, n. 2, p. 86-92, 1990.

OLIVEIRA, M.V.; WETTER, N.U.; ZECELL, D.M.; BORI, H.G.D.; MARRACHINI, T.M.; EDUARDO, C.P. Morphological modifications in the enamel with dye-assisted diode laser (960 nm) irradiation. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, July 30 - August 2, Brussels. *Abstract...* Brussels: ISLD, 2000. p. 37.

ORLAND, F.J.; BLAYNEY, J.R.; HARRISON, R.W.; REYNEIRS, J.A.; TREXLER, P.C.; WATNER, M.; FORDON, H.A.; LUCKEY, T.C. Use of the germ free animal technique in the study of experimental dental caries. *J. Dent. Res.*, v. 33, n. 2, p. 147-174, 1954.

PAGHDIWALA, A.F.; VAIDYANATHAN, T.K.; PAGHDIWALA, M.F. Evaluation of Erbium:YAG laser radiation of hard dental tissues: analysis of temperature changes, depth of cuts and structural effects. *Scanning Microsc.*, v. 7, n. 3, p. 989-997, 1993.

PEDRO, N.A.R. *Determinação de nutrientes minerais em alguns alimentos por ICP-AES*. 1998. Tese (Doutorado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo.

PETERS, D.D.; AUGSBURGER, R.A. *In vitro* model system to evaluate intrapulpal temperature changes. *J. Endod.*, v. 7, n. 7, p. 320-324, 1981.

PINTO, I. L. Prevenção da cárie dental com aplicações semestrais de flúor-fosfato acidulado. *Rev. Saúde Pública*, v. 27, n. 4, p. 277-290, 1993.

POSTEK, M. T.; HOWARD, K. S.; JONHSON, A. H.; MCMICHAEL, K. L. Theory of scanning electron microscopy. In: POSTEK, M. T.; HOWARD, K. S.; JONHSON, A. H.; MCMICHAEL, K. L. *Scanning electron microscopy: a student book*, New York, NY: Ladd Research Industries, 1980. p. 13-46.

POWELL, G.L.; MORTON, T.H.; WHISENANT, B.K. Argon laser oral safety parameters for teeth. *Lasers Surg. Med.*, v. 13, n. 5, p. 548-552, 1993.

QUINTO Jr., J. *Estudo in vitro do esmalte dental irradiado com laser de diodo de alta potência em 960 nm: análise morfológica da superfície dental pós irradiada e análise do comportamento térmico na câmara pulpar devido a aplicação laser*. 2001. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

RADAELLI, C.A.R. *Avaliação da redução bacteriana em conduto radicular infectado e irradiado com laser de diodo. Estudo in vitro*. 2002. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares e Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

RENNEBOOG-SQUILBIN, C.; NAMMOUR, S.; COOMANS, D.; BAREL, A.; CARLEER, M.; DOUROV, N. Measurement of pulp temperature increase to externally applied heat (argon laser, hot water, drilling). *J. Biol. Buccale*, v. 17, n. 3, p. 179-186, 1989.

RIPA, L.W. A critique of topical fluoride methods (dentifrices, mouthrinses, operator- and self-applied gels) in an era of decreased caries and increased fluorosis prevalence. *J. Public Health Dent.*, v. 51, n. 1, p. 23-41, 1991.

ROMANOS, G.; NENTWIG G.H. Diode laser (980 nm) in oral and maxillofacial surgical procedures: clinical observations based on clinical applications. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v. 17, n. 5, p. 193-197, 1999.

SANTAELLA, M. R. L. A.; BRAUN, A.; MATSON, E.; FRENTZEN, M. Laser-assisted inhibition of artificial caries-like lesion formation in enamel of deciduous teeth. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, July 31 - August 2, Yokohama. *Proceedings...* Yokohama: ISLD, 2003. p. 199-200.

SANTOS, E.J. *Determinação de nutrientes e contaminantes inorgânicos em café solúvel por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES)*. 1999. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, M.N.; FEATHERSTONE, J.D.B.; FRIED, D. Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on sound and demineralized enamel. In: LASER IN DENTISTRY, January 20-26, 2001, San Jose. *Proceedings...* San Jose: ISLD, 2001. p. 169-174.

SATO, K. Relation between acid dissolution and histological alteration of heated tooth enamel. *Caries Res.*, v. 17, n. 6, p. 490-495, 1983.

SIMMONDS, R.S.; TOMPKINS, G.R.; GEORGE, R.J. Dental caries and the microbial ecology of dental plaque: a review of recent advances. *N. Z. Dent. J.*, v. 96, n.424, p. 44-49, June 2000

SMAIL, S.R.; PATTERSON, C.J.; MCLUNDIE, A.C.; STRANG, R. In vitro temperature rises during visible-light curing of a lining material and a posterior composite. *J. Oral Rehabil.*, v. 15, n. 4, p. 361-366, 1988.

SOGNNAES, 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, p. 328-329, 1965.

SRIMANEEPONG, V.; PALAMARA, J.E.; WILSON, P.R. Pulpal space pressure and temperature changes from Nd:YAG laser irradiation of dentin. *J. Dent.*, v. 30, n. 7-8, p. 291-296, 2002.

TAGAKI, S.; CHOW, I.C.; SIECK, B.A. Deposition of loosely bound and firmly bound fluorides on tooth enamel by acidic gel containing fluorosilicate and monocalcium phosphate monohydrate. *Caries Res.*, v. 26, n. 5, p. 312-327, 1992.

TAGOMORI, S.; IWASE, T. Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd:YAG laser. *Caries Res.*, v. 29, n. 6, p. 513-520, 1995.

TAGOMORI, S.; MORIOKA, T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res.*, v. 23, n. 4, p. 225 – 231, 1989.

TAKAHASHI, K.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. Morphological and atomic analytical changes after CO₂ laser irradiation emitted at 9.3 μ m on human dental hard tissues. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v. 16, n. 3, p. 167-173, 1998.

TANAKA, M.; MARGOLIS, H.C. Release of mineral ions in dental plaque following acid production. *Arch. Oral Biol.*, v. 44, n. 3, p. 253-258, 1999.

TAYLOR, R.; SHKLAR, G. ROEBER, F. The effects of laser radiation on teeth, dental pulp, and oral mucosa of experimental animals. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 19, n. 6, p. 786-695, 1965.

TEN CATE, J.M.; FEATHERSTONE, J.D. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, v. 2, n. 3, p. 283-296, 1991.

THEODORO, L.H.; HAYPEK, P.; BACHMAN, L.; GARCIA, V.G.; SAMPAIO, J.E.C.; ZECELL, D.M., EDUARDO, C.P. Effect of Er:YAG and diode laser irradiation on the root surface: morphological and thermal analysis. *J. Periodontol.*, v. 74, n. 6, p. 838-843, 2003.

TROWBRIDGE, H.O.; FRANKS, M.; KOROSTOFF, E.; EMLING, R. Sensory response to thermal stimulation in human teeth. *J. Endod.*, v. 6, n. 1, p. 405-412, 1980.

TSAI, C.-L.; LIN, Y.-T.; HUANG, S.-T.; CHANG, H.-W. In vitro acid resistance of CO₂ and Nd:YAG laser-treated human tooth enamel. *Caries Res.*, v. 36, n. 6, p. 423-429, 2002.

TURKMEN, C.; GUNDAY, M.; KARACORLU, M.; BASARAN, B. Effect of CO₂, Nd:YAG, and ArF excimer lasers on dentin morphology and pulp chamber temperature: an *in vitro* study. *J. Endod.*, v. 26, n. 11, p. 644-648, 2000.

TUNGJIKUSOLMUN, S.; CAO, H.; TSAI, J.-Z.; WEBSTER, J.G. Using ansys for three-dimensional electrical-thermal models for radio-frequency catheter ablation. In: ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE, October 30 – November 2, Chicago. *Proceedings...* Chicago: IEEE-EMBS, 1997. p. 161-164.

VISURI, S.R.; WALSH JR, J.T.; WIGDOR, H.A. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers Surg. Med.*, v. 18, n. 3, p. 294-300, 1996.

WEFEL, J.S., HARLESS, J.D. Topical fluoride applications and lesion progression *in vitro*. *J. Dent. Res.*, v. 68, n. 11, p. 1276-1278, 1984.

WHITE, J.M.; PELINO, J.E.; RODRIGUES, R.O.; ZWAHLEN, B.J.; NGUYEN, M.H.; WU, E.H. Surface and pulpal temperature comparison of tooth whitening using lasers and curing lights. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASER IN DENTISTRY, January 23-24, San Jose. *Proceedings...* San Jose: SPIE, 2000. p. 95-101.

YILMAZ, S.; KURU, B.; KURU, L.; NOYAN, U.; ARGUN, D.; KADIR, T. Effect of galium arsenide diode laser on human periodontal disease: a microbiological and clinical study. *Lasers Surg. Med.*, v. 30, n. 1, p. 60-66, 2002.

YOUNG, D.A.; FRIED, D.; FEATHERSTONE, J.D.B. Treating occlusal pit and fissure surface by IR laser irradiation. In: LASER IN DENTISTRY, January 22-28, San Jose. *Proceedings...* Cidade: SPIE, 2000. p. 247-253.

YOUSUF, A.; HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; YAMADA, Y.; KINOSHITA, J.; MATSUMOTO, K. Removal of gingival melanin pigmentation with the semiconductor diode laser: a case report. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v. 18, n. 5, p. 263-266, 2000.

YU, D.; POWELL, G.L.; HIGUCHI, W.I.; FOX, J.L. Comparison of three lasers on dental pulp chamber temperature change. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v. 11, n. 3, p. 119-122, 1993.



M23054



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.