

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
CONCENTRAÇÃO EM DENTÍSTICA RESTAURADORA
DOUTORADO

JULIETA GOMES TAVARES

**INFLUÊNCIA DO LASER DE ALTA POTÊNCIA
NA INIBIÇÃO DE PROCESSOS
DESMINERALIZADORES DO
ESMALTE DENTAL**

Prof. Dr. Luiz Henrique Burnett Jr.

Orientador

Porto Alegre
Dezembro de 2007

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROGRAMA DE DOUTORADO EM ODONTOLOGIA

CONCENTRAÇÃO EM DENTÍSTICA RESTAURADORA

**INFLUÊNCIA DO LASER DE ALTA POTÊNCIA NA INIBIÇÃO DE PROCESSOS
DESMINERALIZADORES DO ESMALTE DENTAL**

JULIETA GOMES TAVARES

TESE APRESENTADA COMO PARTE DOS
REQUISITOS OBRIGATÓRIOS PARA A OBTENÇÃO
DO TÍTULO DE DOUTOR EM ODONTOLOGIA,
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DENTÍSTICA RESTAURADORA

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ HENRIQUE BURNETT JR.

PORTO ALEGRE, DEZEMBRO DE 2007

Uma janela aberta ao conhecimento científico é caminho árduo,
que se percorre com amor à verdade, sabedoria, coragem e
liberdade, com o qual se conquista a paz interior e
o progresso do mundo.

Élida Gomes Tavares

AGRADECIMENTOS

A decisão de dedicar-me à realização do curso de doutorado se deu graças ao apoio, incentivo e amizade do professor Dr. **Luiz Henrique Burnett Júnior** que, além de amigo, veio a tornar-se meu caro orientador nesta tese. Na época em que éramos contemporâneos, na UFRGS, Luiz me disse que o seu objetivo era completar 30 anos com mestrado e doutorado. Além de cumprí-lo, na casa dos trinta já conquistou muito mais do que isso: prestígio, respeito e trabalho em uma das melhores faculdades de odontologia do país. Como tivemos a mesma origem acadêmica, tentei sempre seguir seus passos e enfrentar com a mesma grandeza os obstáculos semelhantes que se seguiram, provando que a dentística pode ser seguida com profissionalismo e ética, e que nossos sonhos podem ser alcançados sem a quebra do caráter e dignidade pessoal que nos segue desde a infância.

Esta é mais uma oportunidade em que eu não posso deixar de comentar a respeito do meu grande inspirador para seguir a carreira acadêmica, o maior dos mestres que já conheci, meu pai **José Antônio Giusti Tavares**. Se tivéssemos governantes com princípios morais, sabedoria, coragem e dedicação à ciência política como ele, nosso país seria certamente um lugar bem melhor para se viver. Agradeço a ele, também, pela ajuda quanto à revisão do texto desta tese. À minha mãe **Élida Gomes Tavares**, nossa grande poetisa, que exerceu papel fundamental nesses três anos, dando-me estímulo e força espiritual nas situações mais difíceis, agradeço pela dedicação e amor sempre concedidos incondicionalmente.

A **Fábio de Oliveira Neuhaus**, o amor de minha vida, que tive a sorte de conhecer no decorrer do curso, responsável por um pequeno momento de distração em relação à tese, mas que se tornou, além de um grande incentivador no momento

mais crítico, um real auxiliar no experimento e um companheiro extremamente paciente.

Agradeço também à minha irmã **Laura**, mais uma mestre e cientista da família, e cunhado **João**, pelo incentivo e auxílio na pesquisa; e à minha estrela mais brilhante, nosso guerreiro corajoso, meu afilhado **Lucas**, pela alegria e vontade de viver.

À tia **Maria**, pelo carinho, amor sincero e experiências de vida transmitidas.

Às minhas verdadeiras amigas, sempre presentes em todos os momentos da minha vida: **Simone, Fernanda Glitz, Fernanda Saffer, Márcia, Ana**, e em especial à **Nicole Rahde**, pelas idéias relevantes em relação à tese. A todas agradeço pela eterna torcida e vibração positiva.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do sul, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia, Prof. **Marcos Túlio Mazzini Carvalho**.

Ao Prof. Dr. **José Poli Figueiredo**, coordenador do curso de Mestrado e Doutorado em Odontologia.

À Profa. Dra. **Nilza Pereira da Costa**, ex-coordenadora do curso de Mestrado e Doutorado em Odontologia, pela atenção, disponibilidade e simpatia de sempre.

À Profa. **Ana Maria Spohr** pela constante disposição, dedicação e ensinamentos, integrados ao seu constante senso de humor, o que torna o trabalho mais prazeroso.

Ao meu “guru” e amigo professor **João Felipe Mota Pacheco**, pela amizade, disponibilidade e conselhos oportunos.

Aos colegas de turma: **Ana Amélia, Luiz Felipe, Helena, Clarissa, Caio, Kléber, Álvaro, Ana Paula, Perpétua, Lisiane, Dúcia, Rogério** e **Alexandre** pela

troca de conhecimentos, entusiasmo e benefício do convívio em grupo nesses três anos.

À Profa. **Maria Antonieta Lopes de Souza**, de quem tive a excelente oportunidade de ser aluna na graduação, pelas aulas de histologia, orientações e bibliografia cedida, fundamentais para iniciar o trabalho.

Devo muito mais do que o reconhecimento formal pode registrar ao prof. **Pantelis Varvaki Rados**, pelo acompanhamento e interpretações das lâminas histológicas durante todo o decorrer do trabalho, além do constante incentivo e segurança advindos de um dos mais conceituados morfologistas.

Ao prof. **Jorge Mariath** e sua equipe pelos ensinamentos e auxílio na utilização do microscópio óptico de luz polarizada da Faculdade de Biologia da UFRGS.

À colega e amiga **Laura Campos Hildebrand**, pela ajuda na microscopia e interpretação das lesões de cárie.

À colega e amiga **Karen Schuch** pela doação de dentes para o projeto piloto.

Às professoras da disciplina de cariologia da UFRGS, **Débora Heler**, **Juliana Jardim** e **Clarissa Faturi**, por terem me situado em relação à metodologia. Com a experiência transmitida por elas, a pesquisa se tornou mais clara e objetiva.

Às minhas secretárias **Rosângela Silveira** e **Libanica Gaspar** pelo inestimável auxílio durante a fase piloto e experimental da pesquisa.

À colega e amiga **Camila Assis** e à aluna **Michele Mezzari** por terem dedicado a integridade dos seus “dedos” para me ajudar, no momento de lixar as amostras.

Ao colega **Teonas Renato Boff** pela imensurável ajuda com as fotografias e imagens da tese, além de disponibilizar o aparelho de laser de argônio para o tratamento das amostras.

À colega **Eleonora** pelo apoio com a revisão bibliográfica e instruções em relação aos lasers.

Aos funcionários da Pós-Graduação: **Marcos, Ana Lúcia, Davenir e Carlos**, pelo convívio agradável e versatilidade em solucionar os problemas burocráticos.

Às funcionárias **Inês, Rose e Zoila** pela prestatividade nas clínicas e laboratórios.

Enfim, dedico esta tese à tia **Nicéa**, que tem demonstrado muita força em um momento de vida muito mais delicado do que uma tese de doutorado e, com isso, me estimulou até o ponto final deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS – ARTIGO 1

Figura 1	Mensuração da área da lesão de cárie (mm ²), através do software VIM-I.	25
Figura 2	Organograma de distribuição das amostras.	26
Tabela 1	Comparação dos valores médios de desmineralização por área, em mm ² , entre os grupos submetidos aos diferentes ciclos de pH e tratamentos com laser.	27
Tabela 2	Comparação do desempenho geral dos tratamentos com laser, considerando todos os grupos de estudo.	28
Tabela 3	Comparação do desempenho geral dos grupos estudados quando submetidos aos diferentes ciclos de pH.	29
Figura 3	Superfície do esmalte após tratamento com laser de neodímio e ciclagem de pH de 48 horas.	30
Figura 4	Superfície do esmalte após tratamento com laser de argônio e ciclagem de pH de 48 horas.	31
Figura 5	Superfície do esmalte sem tratamento e submetido à ciclagem de pH de 48 horas.	32
Figura 6	Superfície do esmalte sem tratamento e submetido à ciclagem de pH de 14 dias.	33
Figura 7	Superfície do esmalte com tratamento com laser de neodímio e submetido à ciclagem de pH de 14 dias.	34
Figura 8	Superfície do esmalte com tratamento com laser de argônio e submetido à ciclagem de pH de 14 dias.	35

LISTA DE FIGURAS E TABELAS – ARTIGO 2

Figura 1	Mensuração da profundidade da lesão de cárie (mm), através do software VIM-I.	57
Figura 2	Organograma de distribuição das amostras.	58
Tabela 1	Comparação dos valores médios de profundidade de desmineralização do esmalte dental irradiado pelos lasers e submetido à ciclagem de pH.	59
Tabela 2	Desempenho geral dos lasers irradiados no esmalte dental submetido à ciclagem de pH, considerando as paredes oclusal e cervical agrupadas.	60
Figura 3	Superfície do esmalte sem tratamento e submetido à ciclagem de pH.	61
Figura 4	Superfície do esmalte após tratamento com laser de neodímio e ciclagem de pH.	62
Figura 5	Superfície do esmalte após tratamento com laser de argônio e ciclagem de pH.	63

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIGNIFICADOS

%	Por cento
°C	Grau Celsius
Ar	Argônio
Ar-F	Argônio-flúor
cm	Centímetro
cm/min	Centímetro por minuto
CO ₂	Dióxido de carbono
d	Dias
Er:YAG	Érbio: ítrio-alumínio-granada
h	Horas
He-Ne	Hélio-neônio
Ho:YLF	Hólmio: ítrio-lantânio-flúor
Hz	Hertz
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
laser	Light amplification by stimulated emission of radiation
mJ	Milijoules
ml	Mililitro
μm	Micrometro
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros quadrados
mmol/L	Milimol por litro
mW	MiliWatt
n	Número de amostras
Nd:YAG	Neodímio: ítrio-alumínio-granada
nm	Nanometros
pH	Potencial hidrogeniônico
pps	Pulsos por segundo
W	Watts
λ	Comprimento de onda
μs	Microsssegundo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
3. ARTIGO CIENTÍFICO 1.....	16
4. ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	48
5. APÊNDICE A - Relatório da mensuração da área (mm²) de desmineralização do esmalte.....	76
6. APÊNDICE B – Relatório da mensuração da profundidade (mm) de desmineralização do esmalte.....	77
7. APÊNDICE C – Tabela do teste ANOVA – Artigo 1.....	78
8. APÊNDICE D – Tabela do teste ANOVA – Artigo 2.....	79
9. APÊNDICE E - Carta de aprovação do comitê de ética em pesquisa da PUCRS.....	80
10. APÊNDICE F – Tabela do teste ANOVA - acuidade intra-examinador.....	81

1. INTRODUÇÃO

A cárie é uma doença multifatorial causada por ácidos produzidos por microrganismos da placa bacteriana, através da utilização de carboidratos da dieta¹. A evolução nos conhecimentos da etiopatogenia desta doença tem possibilitado uma melhora da saúde bucal no mundo, mas os tratamentos preventivos, ainda que eficazes, baseiam-se principalmente na motivação e habilidade do paciente em realizar uma adequada higiene oral e na ação do flúor tópico².

Paralelamente, a sociedade moderna, além de disponibilizar a maioria das bebidas com índices de pH muito inferiores ao considerado “pH crítico” para a desmineralização do esmalte dental³, tem cultivado a grande valorização da estética corporal. A incansável busca das pessoas por um corpo perfeito pode levar a doenças como anorexia e bulimia, causando vômitos freqüentes⁴. Desta forma, ocorre a exposição do esmalte dental ao suco gástrico que tem um pH de 2,5, o que leva à erosão química da superfície do esmalte, sem o envolvimento bacteriano⁵. A erosão pode ter conseqüências catastróficas para a saúde bucal, pois estas perdas de tecido podem resultar em sensibilidade, dor, má aparência e até perda da dimensão vertical do paciente.

Não obstante, autores^{6, 7, 8, 9, 10, 11, 12} têm pesquisado a utilização de diversos tipos de lasers para a prevenção de cáries, afirmando que os mesmos promovem uma superfície de esmalte mais resistente ao ataque ácido dos microrganismos, oferecendo uma maior resistência ao desenvolvimento de lesões de

desmineralização. No entanto, o verdadeiro efeito do laser sobre a estrutura dental para prevenção de cáries ainda não está claro principalmente em relação à dosimetria e ao melhor tipo de laser de alta potência a ser utilizado.

Apesar de eficiente e conservadora, a terapêutica com laser ainda constitui uma realidade distante dos cirurgiões-dentistas, principalmente no Brasil. Por essa razão, o laser deve ser bastante estudado e divulgado, para que possa ser difundido e aceito entre os profissionais, com o objetivo de oferecer uma alternativa de tratamento aos pacientes.

Face à importância de descobrir novos métodos preventivos para a doença cárie e resguardar o esmalte dental submetido a constantes ataques ácidos, em pacientes com distúrbios gástricos ou consumidores de substâncias com baixo pH, é importante oferecer-lhes procedimentos preventivos e restauradores mais seguros e com uma longevidade clínica maior.

Com o propósito de equacionar essa questão, o estudo que segue compreende dois artigos: o primeiro aborda o efeito do laser sobre a desmineralização do esmalte dental submetido a dois tipos de ciclagem de pH que simulam lesões de cárie; o segundo artigo terá como enfoque o efeito preventivo do laser no desenvolvimento de lesões erosivas no esmalte submetido a uma ciclagem de pH que simula distúrbios gastro-alimentares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Featherstone J.D.B. (2004). The continuum of dental caries – evidence for a dynamic disease process. *J. Dent. Res.* 83 (spec Issue C), 39-42.
2. Oho, T., Morioka, T. (1990). A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res.* 24, 86-92.
3. Phelan, J., Rees, J. (2003). The erosive potential of some herbal teas. *J. Dent.* 31, 241-246.
4. Scheutzel, P. (1996). Etiology of dental erosion – intrinsic factors. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 178-190.
5. Ten Cate J.M., Infeld T. (1996). Dental erosion, summary. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 241-244.
6. Yamamoto, H, Sato, K. (1980a). Prevention of dental caries by acousto-optically Q-switched Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 59, 137.
7. Yamamoto, H, Sato, K. (1980b). Prevention of dental caries by Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 59, 2171-2177.
8. Tagomori, S., Morioka, T. (1989). Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.* 23, 225-231.

9. Pelino, J.E.P., Melo, J.B., Eduardo C.P., Jorge, A.O.C. (1999). In vivo study of the Nd:YAG laser effect on human dental enamel: optical and scanning electron microscope analysis. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 17, 171-177.
10. Hossain, M., Nakamura, Y., Kimura, Y., Yamada, Y., Kawanaka, T., Matsumoto, K. (2001). Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 19, 105-108.
11. Hicks, J., Winn, D., Flaitz, C., Powell, L. (2004). In vivo caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment: a clinical pilot study. *Quintessence Int.* 35, 15-20.
12. Westerman, G. H., Hicks, M.J., Flaitz, C., Powell, G.L. (2004). In vitro enamel caries formation: argon laser, light-emitting diode and apf treatment effect. *J. Dent.* 17, 383-387.

I

**INFLUÊNCIA DO LASER DE ALTA POTÊNCIA NA INIBIÇÃO DE CÁRIES
ARTIFICIAIS EM ESMALTE**

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a área de desmineralização do esmalte irradiado com os lasers de Nd:YAG ou argônio, além de investigar dois métodos de ciclagem de pH que simulam o desenvolvimento da doença cárie.

Problema: O uso dos lasers na prevenção de cárie em esmalte tem sido pesquisado, mostrando bons resultados principalmente quando associados ao flúor. Todavia, poucos estudos comparativos acerca do uso de lasers sobre o esmalte em diferentes ciclos de pH estão disponíveis. **Materiais e métodos:** Vinte

e um terceiros molares humanos inclusos extraídos tiveram a porção coronária seccionada em duas faces, vestibular e lingual; que, posteriormente, foram seccionadas em duas hemifaces. Os fragmentos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: o **GRUPO I**, de controle, não recebeu qualquer tratamento; o **GRUPO II** foi tratado com laser de Nd:YAG com 60 mJ, 15 pps, 0,9 W e 47,77 J/cm², por 30 segundos; e, enfim, o **GRUPO III** tratado com laser de argônio com 250 mW, 12 J/cm², por 48 segundos. Após, as hemifaces de cada grupo tiveram a superfície de esmalte coberta com verniz, restando uma área central de 3 mm x 3 mm, a qual foi exposta a um dos seguintes ciclos de pH: **ciclo 1**, compreendendo 14 dias de imersão em solução desmineralizante por 6 horas/dia e solução remineralizante por 18 horas/dia a 37°C; **ciclo 2**, com 48 horas de imersão em solução desmineralizante. As hemifaces foram cortadas em fatias com espessura de 60 a 100 µm para obtenção das lâminas histológicas. Em seguida, foram

observadas em microscopia de luz polarizada para medição das áreas de desmineralização (mm^2) (n=11 por grupo). As médias obtidas foram: 0,2509 A (controle ciclo 2); 0,1836 AB (controle ciclo 1); 0,1782 AB (Nd:YAG ciclo 1); 0,1391 BC (argônio ciclo 2); 0,0927 BC (Nd:YAG ciclo 2) e 0,0682 C (argônio ciclo 1). Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença estatística para ANOVA e Tukey ($p < 0,05$). Foi possível concluir que o tratamento com o laser de argônio foi mais efetivo, apresentando uma menor área de desmineralização, sob a ciclagem de pH de 14 dias.

Palavras-chave: laser de argônio; laser de neodímio; ciclagem de pH; prevenção de cáries.

INTRODUÇÃO

A cárie é uma doença multifatorial causada por ácidos produzidos por microrganismos da placa bacteriana, que metabolizam os carboidratos da dieta¹. O conhecimento da etiopatogenia da cárie dental tem possibilitado uma melhora da saúde bucal no mundo, mas os tratamentos preventivos, ainda que eficazes, baseiam-se principalmente na motivação e habilidade do paciente em realizar uma adequada higiene oral e na ação do flúor tópico².

O estudo clínico tem sido a melhor forma de avaliar os resultados decorrentes da presença da cárie dental; todavia, além de necessitar de tempo considerável para ser realizado, pode apresentar elevado custo e dificuldades para um controle efetivo sobre a presença dos pacientes nas consultas de avaliação. Embora algumas pesquisas tenham reportado dados clínicos, a progressão de cáries primárias e secundárias tem sido principalmente avaliada *in vitro*, utilizando-se soluções descalcificadoras ou culturas de bactérias³. Assim, os modelos artificiais de cáries, tanto em laboratório, como *in situ*⁴, têm sido muito utilizados a fim de verificar a eficácia de procedimentos terapêuticos e preventivos. Em laboratório, o processo de formação das lesões é bem mais rápido do que na boca: assim, uma vantagem desses modelos é que muito pode ser aprendido num curto período de tempo³. Muitos estudos de laboratório têm utilizado o modelo de variação do pH^{1, 5}. Esses modelos podem produzir um processo contínuo de formação de cárie que vai desde uma mancha branca imperceptível até a formação de uma cavidade, o que possibilita investigar a etiologia e prevenção das lesões de cárie.

Por sua vez, o uso do laser nos oferece uma nova possibilidade para aprimorar as técnicas de tratamento da cárie e sua prevenção. Especificamente, o laser de Nd:YAG parece modificar a estrutura cristalina do esmalte, tornando-a mais resistente ao ácido e, desta forma, dificultando o desenvolvimento de lesões de desmineralização^{6, 7}. Não obstante, a irradiação com laser de argônio também pode ser utilizada para modificar a hidroxiapatita e deixá-la mais resistente à dissolução pelo ácido^{8, 9}. Apesar do efeito preventivo dos dois lasers no que diz respeito aos resultados isolados, as alterações da superfície do esmalte são diferentes para cada tipo de laser, quando utilizados em baixa intensidade. Enquanto o laser de neodímio provoca um derretimento e fusão dos prismas¹⁰, o argônio produz uma superfície granular com inúmeras microporosidades, que parecem funcionar como depósitos de minerais, que servem para defender a estrutura frente a ataques acidogênicos¹¹. No entanto, o verdadeiro efeito isolado do laser sobre a estrutura dental para prevenção de cáries ainda não está claro, uma vez que vários estudos utilizam o flúor associado ao laser, variando a dosimetria.

Face à importância de se descobrir métodos preventivos da doença cárie, é interessante verificar a influência da ação dos lasers de Nd:YAG e argônio sobre a resistência do esmalte à desmineralização induzida em laboratório, além de investigar dois métodos de ciclagem de pH que simulam o desenvolvimento de lesões de cárie.

Este trabalho partiu da hipótese nula de que não há diferença significativa entre os grupos estudados quanto à área de desmineralização do esmalte.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparos das amostras

Vinte e um terceiros molares humanos inclusos, extraídos por indicação terapêutica, foram obtidos no Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Os dentes foram armazenados em soro fisiológico a 4°C por um período máximo de seis meses, sendo a solução trocada semanalmente até a realização do experimento.

Os dentes foram embutidos em resina acrílica autopolimerizável e, após, seccionados no sentido do seu longo eixo com disco diamantado (Buehler, número 11-4243, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração, em uma máquina de corte (Labcut 1010, Extec, Inglaterra), a fim de dividí-los em faces vestibular e lingual. As faces foram seccionadas no sentido ocluso-cervical obtendo-se quatro hemifaces de cada terceiro molar, as quais foram divididas aleatoriamente e receberam um dos seguintes tratamentos: **GRUPO I** – sem tratamento (controle); **GRUPO II** – aplicação do laser de Nd:YAG (Pulsemaster 1000, American Dental Technologies, Salt Lake City, UT, USA); e **GRUPO III** – aplicação do laser de argônio (Accucure 3000, LaserMed Laser System, Salt Lake City, UT, USA). Em seguida, no esmalte das hemifaces, exceto nos do grupo controle, foram irradiados os lasers estudados. A superfície de esmalte da amostra foi coberta com grafite e aplicado o laser de Nd:YAG ($\lambda=1064$ nm), segundo os parâmetros

60 mJ, 15 pps, 0,9 W, 47,77 J/cm², duração do pulso 100µs em movimento de varredura , sem contato, durante 30 segundos por amostra. Para o laser de argônio ($\lambda=488$ nm) a superfície foi coberta com um gel a base de carbopol e corante vermelho (Whiteness HP, FGM, Curitiba, PR, Brasil) e irradiada, segundo os parâmetros 250 mW, 12 J/cm², durante 48 segundos. Após os procedimentos de tratamento de superfície, as hemifaces foram lavadas com jatos de ar/água e armazenadas em tubos eppendorf individuais contendo água deionizada, em estufa, a 37° C, por 24 horas.

Indução de cárie artificial

Para padronizar a área que foi exposta à ciclagem de pH, todas as hemifaces foram cobertas com verniz (Colorama, São Paulo, SP, Brasil), deixando-se apenas uma área pré-estabelecida (3 mm no sentido cérvico-oclusal e 3 mm no sentido mésio-distal) para ser exposta às soluções. Para conferir as medições foi utilizado um paquímetro digital (Mitutoyo, Suzano, SP, Brasil).

No ciclo 1, as hemifaces de cada grupo (14 hemifaces por grupo) foram submetidas ao modelo dinâmico de ciclagem de desmineralização e remineralização¹² onde cada ciclo consistiu em imersão em solução desmineralizante (2,0 mmol/L de cálcio, 2,0 mmol/L de fosfato e 75 mmol/L de acetato em pH 4,5) por 6 horas, depois lavagem em água deionizada, secagem com jatos de ar e imersão em solução remineralizante (1,5 mmol/L de cálcio, 0,9 mmol/L de fosfato, 150 mmol/L de cloreto de potássio e 20 mmol/L de tampão tris em pH 7,0), por 18 horas a 37°C. Então, foram novamente lavadas, secas e

imersas na solução desmineralizante até a conclusão dos 14 ciclos de pH, com duração de 14 dias. As duas soluções, desmineralizante e remineralizante, foram trocadas diariamente durante este período, sendo padronizada a quantidade em 30 ml por grupo.

No ciclo 2, as hemifaces de cada grupo (14 hemifaces por grupo) foram submetidas ao modelo químico de indução de desmineralização de 48 horas^{13, 14} (2,2 mmol/L de cloreto de cálcio, 2,2 mmol/L fosfato de sódio e 50 mmol/L de ácido acético, em pH 4,5, ajustado com hidróxido de sódio) que consistiu em imersão constante em solução desmineralizante a 37°C. A solução foi trocada após 24 horas.

Após o término das ciclagens de pH, os fragmentos foram preparados para avaliação em microscópio de luz polarizada.

Obtenção das lâminas histológicas

As hemifaces foram fixadas com cera (Kota, São Paulo, SP, Brasil) em uma matriz de acrílico medindo 4 cm de altura x 4 cm de largura x 0,8 cm de espessura e, depois, cortadas em fatias com disco diamantado (Buehler, número 11-4243, Lake Bluff, IL, EUA), acoplado em uma máquina de corte (Labcut 1010, Extec, Inglaterra), no sentido esmalte-dentina, sob refrigeração com água deionizada, com uma velocidade de 150 rpm. As fatias foram desgastadas manualmente com lixas d'água abrasivas de granulação 600 e 1200 ficando com uma espessura final

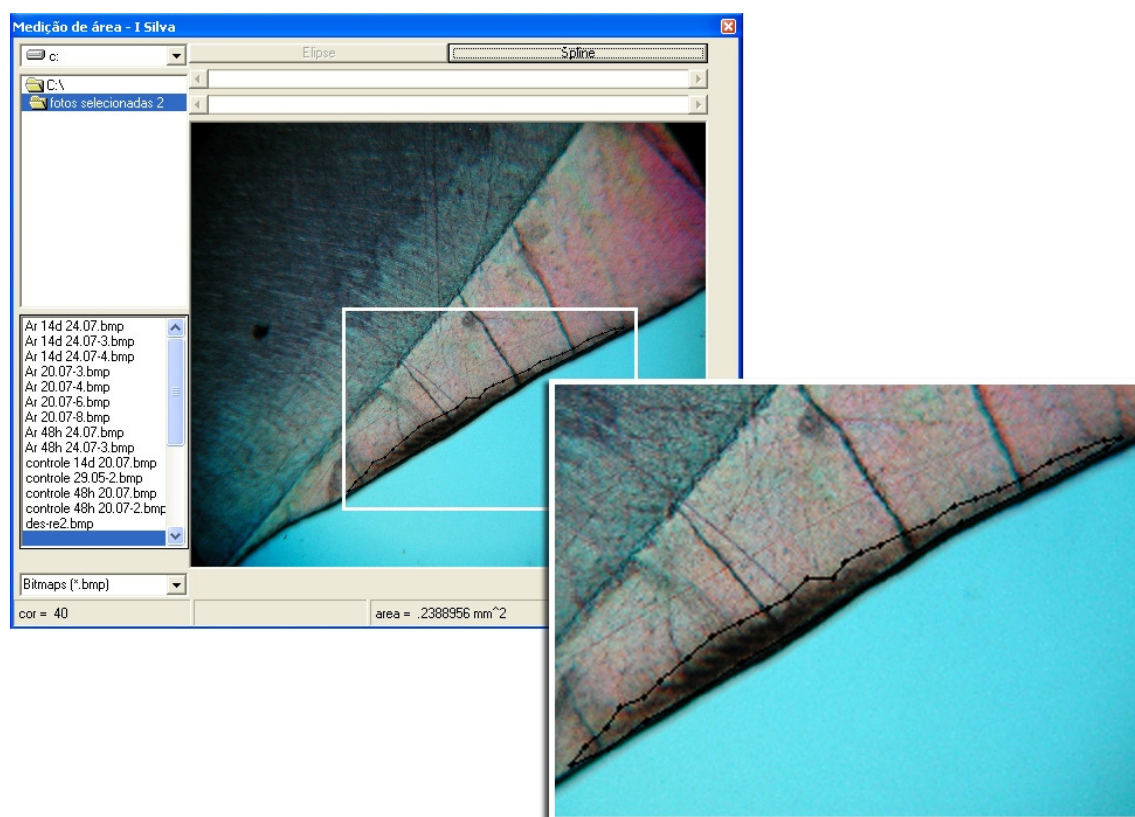
de 60 a 100 μm , a qual foi aferida com um paquímetro digital (Mitutoyo, Suzano, São Paulo, Brasil).

Análise em microscopia de luz polarizada com contraste interferencial

As lâminas foram montadas com água deionizada e observadas em microscópio óptico (DMRHC, Leica, Wetzlar, Alemanha), com aumento de 5 vezes, equipado com sistema de contraste interferencial, onde foram analisadas as áreas de desmineralização em esmalte. As imagens foram registradas com auxílio de uma máquina digital (modelo 990, Nikon, Tóquio, Japão) acoplada ao microscópio e, posteriormente, analisadas através do Software VIM-I (Faculdade de Engenharia, PUCRS, RS, Brasil) (Figura 1), onde a área da lesão de cárie foi mensurada em mm^2 . Foram realizadas três medidas para cada amostra em três semanas consecutivas para que se obtivesse uma média por amostra. O examinador desconhecia os grupos aos quais os espécimes pertenciam. Foram analisadas 11 amostras por grupo. Para verificar a reprodutibilidade intra-examinador foi selecionada uma imagem de cada grupo, a qual recebeu cinco medições, uma vez por semana, durante três semanas. Essas medições foram submetidas à Análise de Variância para determinar se havia diferença entre os dias avaliados, sendo a igualdade entre os dias determinada por $p > 0,05$. Um exemplo desta avaliação preliminar encontra-se no apêndice F. Em seguida, as médias obtidas foram analisadas com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido dos testes estatísticos de ANOVA com dois fatores fixos (tratamento de

superfície e método de ciclagem) e Tukey ($p < 0,05$) (Statistix for Windows 8.0, FL, EUA).

Figura 1. Mensuração da área da lesão de cárie (mm^2), por meio do software VIM-I.



A área demarcada corresponde à área de desmineralização do esmalte.

Figura 2. Organograma de distribuição das amostras. Cada dente foi dividido em quatro hemifaces que foram aleatoriamente distribuídas em seis grupos. Após o preparo das amostras, foram selecionadas onze fatias para serem analisadas em cada grupo.



RESULTADOS

Os valores obtidos na medição da desmineralização do esmalte estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Comparação dos valores médios de desmineralização do esmalte por área, em mm^2 , entre os grupos submetidos aos diferentes ciclos de pH e tratamentos com laser.

Grupos	Média (mm^2)	Desvio-Padrão
Controle 48 h	0,2509 (A)	0,012
Controle 14 d	0,1836 (AB)	0,09
Argônio 48 h	0,1391 (BC)	0,06
Argônio 14 d	0,0682 (C)	0,005
Nd:YAG 48 h	0,0927 (BC)	0,07
Nd:YAG 14 d	0,1782 (AB)	0,06

*O valor crítico de Tukey para comparação entre as médias é 0,1.

**Médias seguidas de letras distintas diferem entre si para Anova e Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que o laser de argônio obteve a menor média de área de desmineralização no ciclo de 14 dias. Por sua vez, o laser de neodímio em 14 dias não apresentou diferença estatística em relação ao grupo controle sem tratamento.

Tabela 2. Comparação do desempenho geral dos tratamentos com laser, considerando todos os grupos de estudo.

Tratamentos	Área de desmineralização (mm ²)
Controle	0,2173 A
Argônio	0,1036 B
Neodímio	0,1355 B

*O valor crítico de Tukey para comparação entre as médias é 0,06.

**Médias seguidas de letras distintas diferem entre si para Anova e Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que o laser de argônio apresentou menor área de desmineralização, porém não diferiu estatisticamente do laser de neodímio, considerando todos os grupos estudados.

Tabela 3. Comparação do desempenho geral dos grupos estudados quando submetidos aos diferentes ciclos de pH.

Ciclos	Área de desmineralização (mm ²)
48 horas	0,1609 A
14 dias	0,1433 A

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, em nível de significância de 5%.

Observa-se que não houve diferença estatística na área de desmineralização entre as ciclagens de pH de 48 horas e de 14 dias.

Figura 3. Superfície do esmalte após tratamento com laser de neodímio e ciclagem de pH de 48 horas (aumento de cinco vezes).

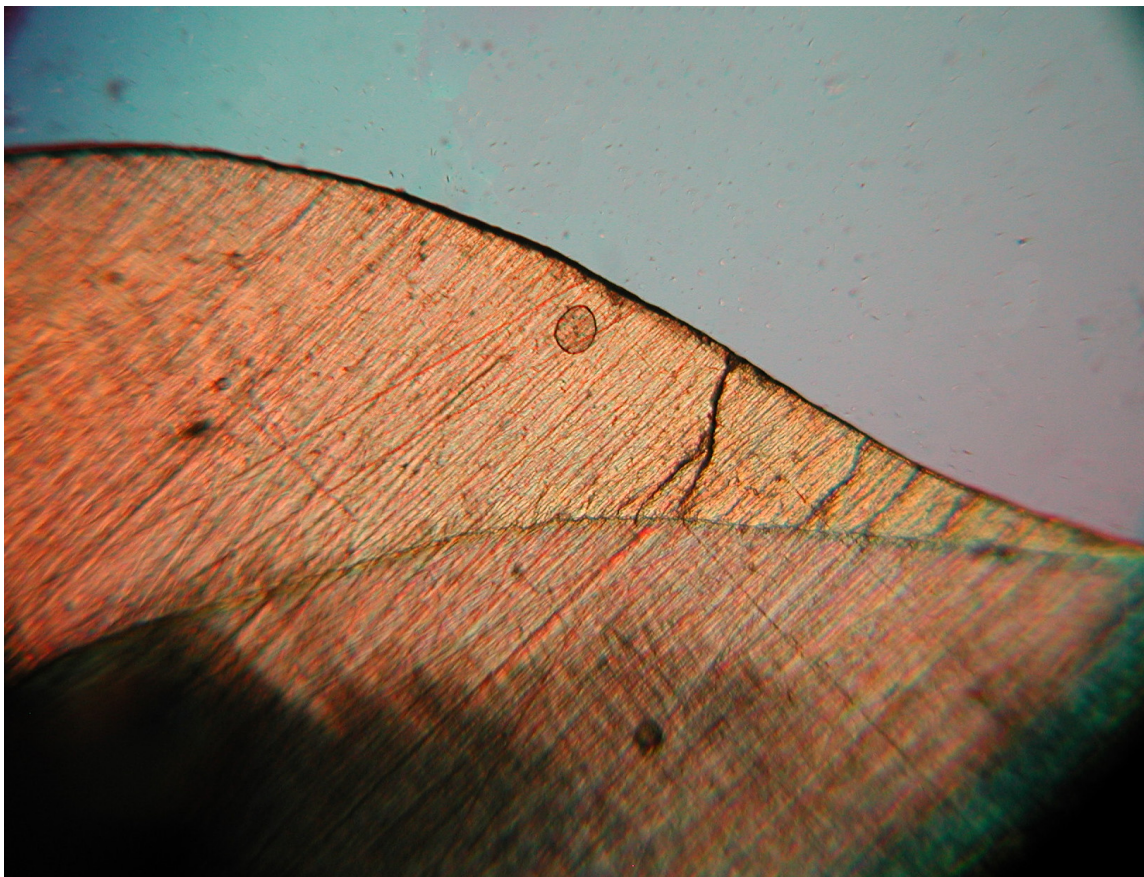


Figura 4. Superfície do esmalte após tratamento com laser de argônio e ciclagem de pH de 48 horas (aumento de cinco vezes).

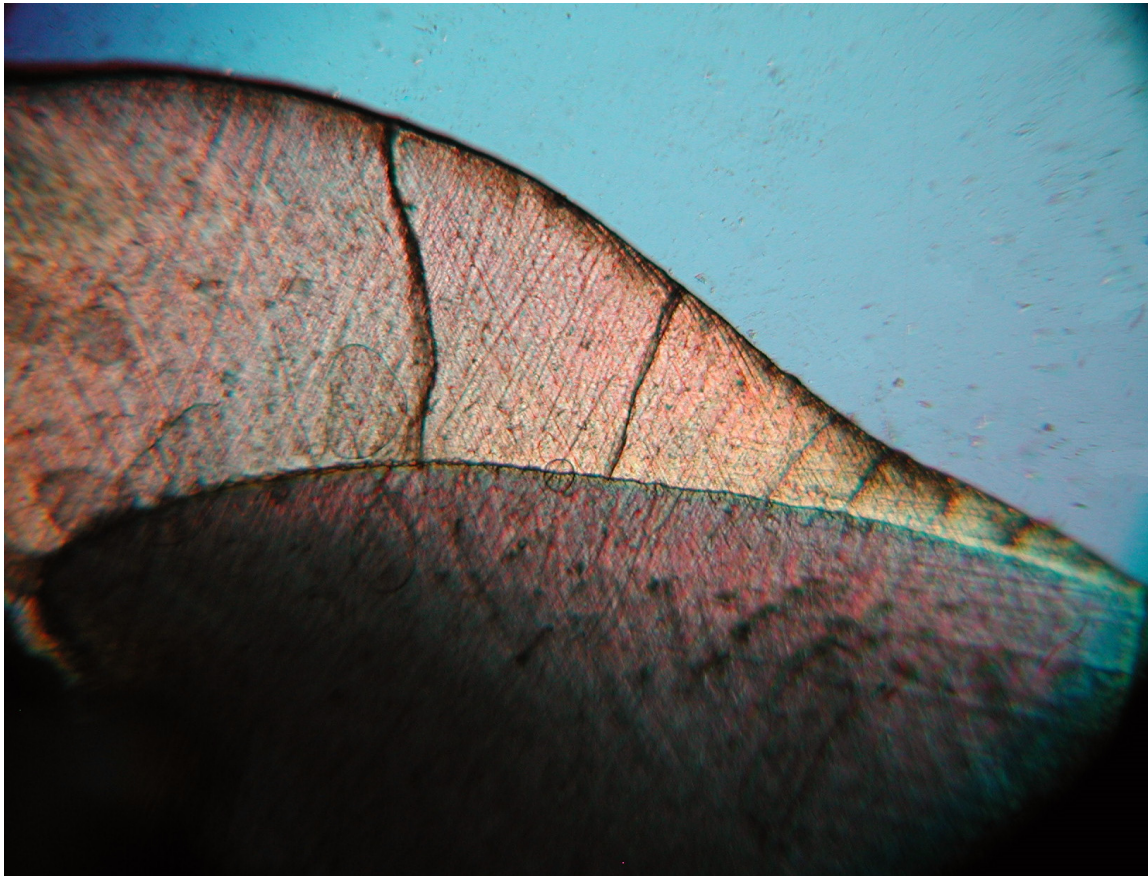


Figura 5. Superfície do esmalte sem tratamento e submetido à ciclagem de pH de 48 horas (aumento de cinco vezes).

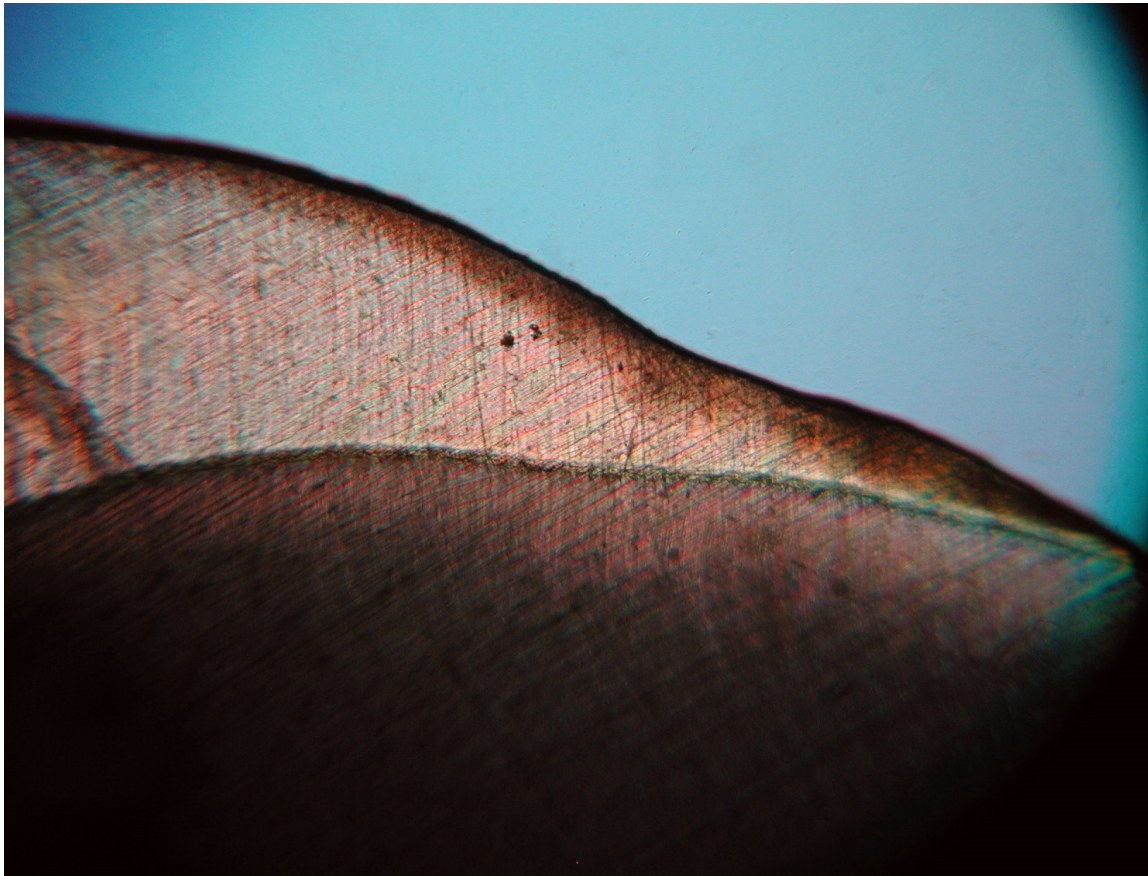


Figura 6. Superfície do esmalte sem tratamento e submetido à ciclagem de pH de 14 dias (aumento de cinco vezes).

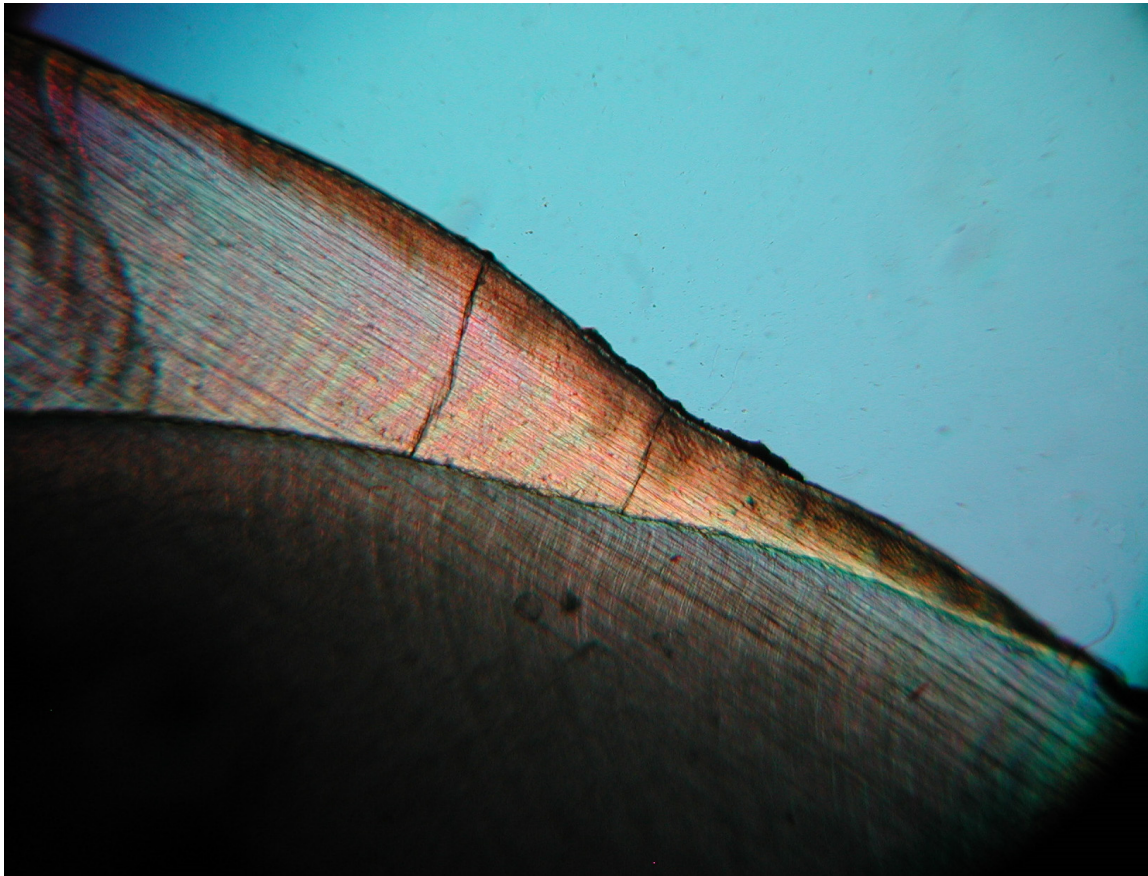


Figura 7. Superfície do esmalte com tratamento com laser de neodímio e submetido à ciclagem de pH de 14 dias (aumento de cinco vezes).

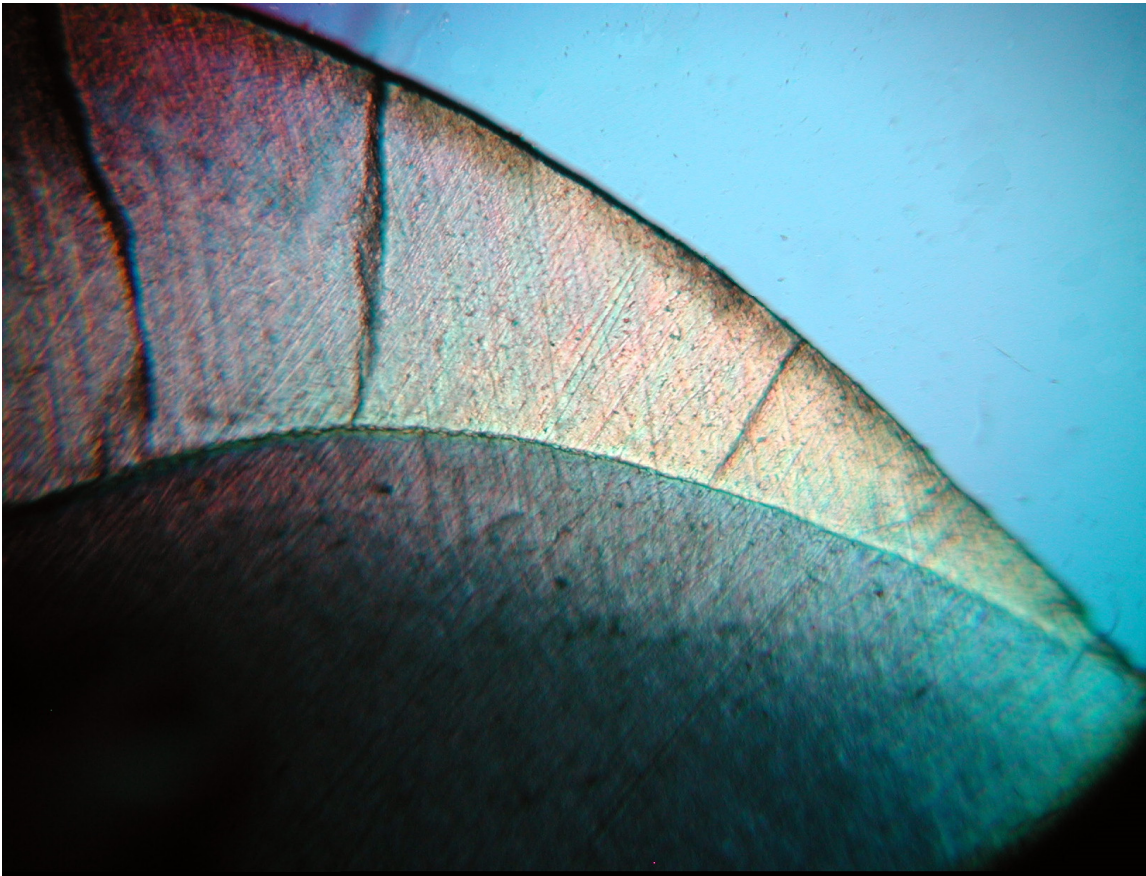
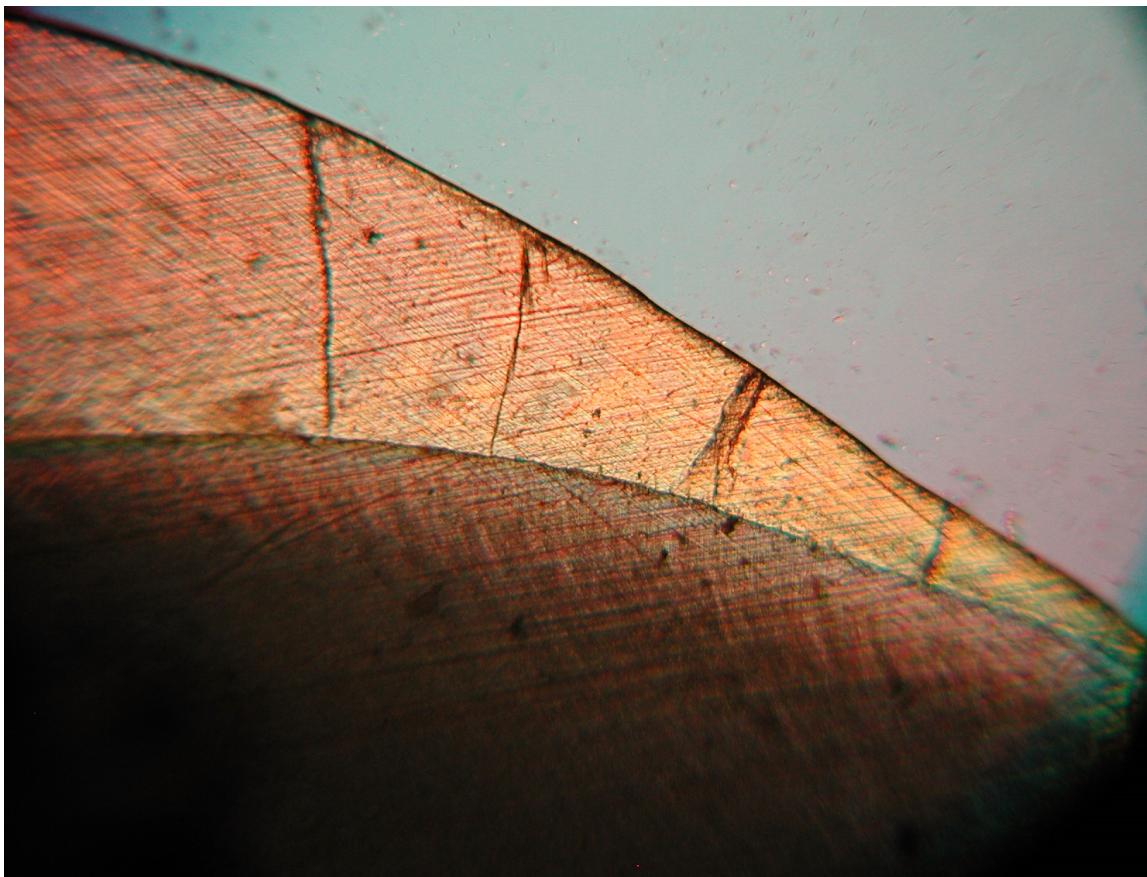


Figura 8. Superfície do esmalte com tratamento com laser de argônio e submetido à ciclagem de pH de 14 dias (aumento de cinco vezes).



DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, rejeitamos a hipótese inicial deste estudo, na qual não haveria diferenças entre os grupos para a área de desmineralização do esmalte.

Devido à facilidade de aplicação clínica da técnica apresentada nesta pesquisa, as implicações clínicas imediatas são a irradiação preventiva de dentes permanentes recém-erupcionados e o tratamento do ângulo cavo superficial em esmalte das margens de restaurações.

A freqüente troca das restaurações tem sido um problema na prática odontológica. Esse ciclo restaurador acaba ampliando os preparos, enfraquecendo a estrutura dentária e aumentando a necessidade de tratamentos mais complexos. Estudos sobre a freqüência de troca das restaurações nos consultórios odontológicos mostram que a ocorrência de cáries secundárias é o principal motivo para a substituição¹⁵ das mesmas. Os defeitos nas restaurações apresentam relação com a presença de cárie secundária, provavelmente por serem um local de acúmulo de bactérias; porém já foi comprovado que a lesão inicia externamente na interface dente-restauração, local passível de diagnóstico, controle e inativação^{16,17}. Tais abordagens com lasers oferecem benefício para a população uma vez que a cárie dental é, ainda, o maior problema para a saúde bucal dos indivíduos¹.

A suscetibilidade à cárie é maior logo após a erupção do dente e diminui com a idade¹⁸. A superfície do esmalte de dentes não erupcionados apresenta mais porosidades e menor conteúdo mineral do que dentes já erupcionados¹⁹. Kotsanos e Darling¹⁸ avaliaram, *in vitro*, a suscetibilidade à cárie de dentes não erupcionados e outros já erupcionados, com diferentes tempos de exposição ao meio bucal. Os resultados indicaram uma redução na ocorrência de lesões de cárie proporcional ao aumento do tempo de exposição do dente ao meio bucal,

principalmente nos primeiros três anos pós-eruptivos. Devido a essa grande variabilidade, foi decidido empregar na pesquisa terceiros molares inclusos com indicação de exodontia e realizar um estudo *in vitro*.

Neste estudo, não foi utilizado o laser associado ao flúor, pois o foco deste experimento foi observar se apenas a luz dos lasers seria capaz de prevenir o desenvolvimento das lesões. Tal qual o flúor, o laser não pode ser considerado um antídoto absoluto ao estabelecimento da doença cárie, mas sim uma nova possibilidade preventiva. No presente estudo, houve a formação de lesões em todos os grupos submetidos ao tratamento agressivo de ciclagem de pH, assim como nos estudos com flúor, o qual, isoladamente, não evita ou impede a doença, porém eficazmente reduz sua velocidade de progressão^{20, 21}. Nesta pesquisa, foi realizada apenas uma irradiação da superfície com os lasers propostos. Já, sabe-se que o flúor necessita estar constantemente disponível para evitar ou retardar o desenvolvimento da lesão cariosa. No entanto, embora inexistam estudos populacionais de acompanhamento de indivíduos com a superfície do esmalte irradiada pelos lasers de Nd:YAG ou argônio sem o flúor, destacamos que o tratamento aqui proposto pode ser considerado coadjuvante às estratégias de acesso ao flúor tais como: dentifrícios e aplicação tópica profissional, os quais apresentam resultados efetivos de redução da prevalência de cárie dental^{22, 23}.

Não obstante, futuros estudos laboratoriais de indução de cárie artificial por método microbiológico poderiam verificar se, com o controle dos fatores etiológicos da doença, como o acúmulo de biofilme dental, presença de açúcares

e ausência de flúor, a maximização do efeito de resistência ao ácido por parte do esmalte irradiado pelo laser pode ser alcançada.

Em relação ao processo artificial de formação de cárie, este pode ser realizado utilizando dois métodos: um, envolvendo o uso da microbiota oral²⁴, e outro, utilizando um sistema químico¹². Ambos produzem^{25, 26} a manifestação de lesões iniciais, principalmente manchas brancas, cáries secundárias ao redor das restaurações, cáries radiculares, cáries de sulcos e fissuras e cáries em dentina.

Dentre os modelos químicos de ciclagem de pH, há variações no que diz respeito à duração de cada etapa do ciclo, ao número de dias e à formulação utilizados. Devido a esta diversidade de modelos indutores de desmineralização *in vitro* e às dificuldades de realização de estudos *in vivo* - como custo, tempo e disponibilidade dos pacientes - decidimos comparar dois métodos de ciclagem de pH, um de 14 dias e outro, mais simplificado, de apenas 48 horas. A ausência de diferença estatística entre os modelos estudados nesta pesquisa (Tabela 3) permite afirmar que o modelo de 48 h parece ser mais adequado, uma vez que o ganho de tempo é significativo e se torna menor a taxa de erro no procedimento de troca das soluções desmineralizadora e remineralizadora.

Os efeitos da energia laser sobre o esmalte para prevenção de cáries têm sido pesquisados com diferentes tipos de lasers e parâmetros de radiação. Os lasers mais utilizados nas pesquisas sobre prevenção de cárie são o Nd:YAG e o CO₂, sendo o primeiro mais recomendado devido a sua fácil manipulação¹⁰ e aos altos índices de resistência à descalcificação ácida do esmalte encontrados após a sua aplicação^{27, 28}. O desejável é que, além de se ter a possibilidade de trabalhar

com o laser para a prevenção em dentes não cavitados, se desenvolva um laser que remova o tecido cariado e após seja utilizado para tratar as paredes da cavidade, a fim de torná-las mais resistentes à desmineralização por ácidos²⁹.

Existe uma grande discussão no ambiente científico no que diz respeito aos parâmetros de irradiação dos lasers com o intuito preventivo. O uso dos lasers de alta potência em parâmetros elevados de intensidade de energia pode promover a ocorrência de efeitos deletérios, tais como a formação de trincas e carbonização decorrentes do superaquecimento da superfície dental. Assim, com uma baixa intensidade de energia (60 mJ, 15 pps, 0,9W, 47,77 J/cm²) e o uso de um corante de baixo custo foi possível obter o efeito clínico desejado. O uso de grafite como corante deve-se ao fato do laser de Nd:YAG ter afinidade por pigmentos escuros conforme preconizado por Tagamori & Morioka¹⁰ e Silveira et al.³⁰.

Para o laser de argônio ($\lambda=488$ nm), a superfície foi coberta com um gel a base de carbopol incolor e corante vermelho e irradiada de acordo com os parâmetros 250mW, 12 J/cm², durante 48 segundos. Foi mensurado previamente em estudo piloto o comprimento de onda do corante vermelho utilizado o qual apresenta 600 nm, facilitando assim, a absorção do argônio sobre a superfície do esmalte dental.

Os resultados deste trabalho demonstraram que quando analisados os dois modelos de ciclagem juntos através da ANOVA two-way (Tabela 2), as amostras do grupo controle (0,21mm²) apresentaram uma média da área de desmineralização maior do que as amostras dos grupos tratados com os lasers (0,1mm² para o argônio e 0,13 mm² para o neodímio), comprovando que a aplicação *in vitro* do laser de neodímio^{7, 31} e do laser de argônio^{8, 9} são eficientes

em impedir o aumento da área de lesões de desmineralização em esmalte. Quando analisadas em modelos de ciclagem de pH separados (Tabela 1), as amostras submetidas ao ciclo de 48 horas continuaram demonstrando que tanto o laser de neodímio (Figura 3) quanto o de argônio (Figura 4) aumentam a resistência do esmalte ao ácido, pois apresentaram uma média da área de desmineralização de 0,13 mm² para o argônio e de 0,09 mm² para o neodímio, enquanto o grupo controle apresentou uma média de 0,25mm² (Figura 5). Já, para a ciclagem de 14 dias, não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle (0,18 mm²) (Figura 6) e o laser de neodímio (0,17mm²) (Figura 7), enquanto para o grupo do laser de argônio (Figura 8) a média de desmineralização do esmalte foi menor estatisticamente (0,06mm²). Observando estes dados, é possível especular que as alterações da superfície do esmalte causadas pelo laser de neodímio podem não proteger contra o ataque ácido a longo prazo e que a aplicação do laser de argônio sobre o esmalte seria mais efetiva.

Por outro lado, não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os ciclos entre si (Tabela 3). As amostras submetidas à ciclagem por 48 horas apresentaram 0,16 mm² de média de área de desmineralização, enquanto as amostras da ciclagem de 14 dias apresentaram 0,14 mm². Assim, poderíamos recomendar a ciclagem de 48 horas como a mais indicada, pois necessita de menor tempo para ser implementada.

Seria interessante a realização de futuros estudos *in vivo* ou, inclusive, epidemiológicos, empregando tecnologias laser para a prevenção de cáries, a fim de que se tenha uma abordagem mais abrangente para o benefício da população.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, com a metodologia empregada nesta pesquisa, foi possível concluir que:

- Na ciclagem de pH de 48 horas, os lasers de argônio e neodímio se mostraram eficientes, impedindo o aumento da área de desmineralização do esmalte.
- Na ciclagem de pH de 14 dias, o laser de argônio mostrou maior efetividade que o de neodímio, impedindo o aumento da área de desmineralização do esmalte.
- Não houve diferença entre os ciclos de simulação de cárie artificial de 48 h ou 14 dias.

SUMMARY

Aim: The aim of this *in vitro* study was to investigate the effect of Nd:YAG and argon laser irradiations on the enamel acid demineralization by two different chemical laboratory models (pH cycling). **Summary background data:** The use of lasers to prevent enamel caries has been shown good results, but there are few comparative studies about the effect of different lasers in different pH models cycling. **Methods and materials:** Twenty one extracted human third molars were sectioned into tooth quarters. The quarters were distributed in three groups: **GROUP I** (control), non-treated; **GROUP II** received the Nd:YAG laser irradiation with the following protocol: 60 mJ, 15 pps, 0.9 W e 47.77 J/cm^2 , 30 seconds; and **GROUP III** received the argon laser irradiation with the following protocol: 250 mW, 12 J/cm^2 , 48 seconds. The surfaces were covered with an acid resistant varnish to be immersed in standard acidified buffer solutions. The tooth quarters were submitted to a two different pH cycling: cycle 1: a 14-day remineralization (6 hours) and demineralization (18 hours) solutions, 37°C ; cycle 2 with 48 hours in demineralization solution. The samples were prepared in slices (60 to $100 \mu\text{m}$) to be evaluated by polarized light microscopy. The demineralizations areas were measured (mm^2) (n=11). **Results:** Means followed by different letters are significantly different to ANOVA and Tukey's test ($p < 0,05$): 0.2509 A (control cycle 2); 0.1836 AB (control cycle 1); 0.1782 AB (Nd:YAG cycle 1); 0.1391 BC (argon cycle 2); 0.0927 BC (Nd:YAG cycle 2) e 0.0682 C (argon cycle 1). **Conclusion:**

The results suggest that the treatment with argon laser was more effective, showing the smaller demineralization area by two different pH model cycling.

Keywords: argon laser; Nd:YAG laser; pH cycling; caries prevention.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Featherstone J.D.B. (2004). The continuum of dental caries – evidence for a dynamic disease process. *J. Dent. Res.* 83 (spec Issue C), 39-42.
2. Oho, T., Morioka, T. (1990). A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res.* 24, 86-92.
3. Ten Cate, J.M., Mundorff-Shrestha, S.A. (1995). Working group report: laboratory models for caries (in vitro and animal models). *Adv. Dent. Res.* 9, 332-334.
4. Zero D.T. (1995). In situ caries models. *Adv. Dent. Res.* 9, 214-230.
5. Ten Cate, J.M., Duijsters, P.P. (1982). Alternating demineralisation and remineralisation of artificial enamel lesions. *Caries Res.* 16, 201-210.

6. Pelino, J.E.P., Melo, J.B., Eduardo C.P., Jorge, A.O.C. (1999). In vivo study of the Nd:YAG laser effect on human dental enamel: optical and scanning electron microscope analysis. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 17, 171-177.
7. Hossain, M., Nakamura, Y., Kimura, Y., Yamada, Y., Kawanaka, T., Matsumoto, K. (2001). Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 19, 105-108.
8. Hicks, J., Winn, D., Flaitz, C., Powell, L. (2004). In vivo caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment: a clinical pilot study. *Quintessence Int.* 35, 15-20.
9. Westerman, G. H., Hicks, M.J., Flaitz, C., Powell, G.L. (2004). In vitro enamel caries formation: argon laser, light-emitting diode and apf treatment effect. *J. Dent.* 17, 383-387.
10. Tagomori, S., Morioka, T. (1989). Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.* 23, 225-231.
11. Westerman, G.H., Hicks, M.J., Flaitz, C., Powell, G.L., Blankenau R.J. (1996). Surface morphology of sound enamel after argon laser irradiation: an in vitro scanning electron microscopic study. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 21, 55-59.
12. Featherstone J.D. (1986). Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. In: factors relating to demineralisation and

remineralization of the teeth. Leach SA, editor. Oxford, UK: IRL Press, pp.23-34.

13. Okuda, M., Pereira, P.N.R., Nikaido T., Tagami, J. (2003). Evaluation of in vitro second caries using confocal laser scanning microscope and x-ray analytical microscope. *Am. J. Dent.* 16, 191-196.
14. Waidyasekera, P.G.K., Nikaido, T., Weerasinghe, D.D.S., Wettasinghe, K.A., Tagami J. (2007). Caries Susceptibility of human fluorosed enamel and dentine. *J. Dent.* 35, 343-349.
15. Mjör I. A., Moorhead, J.E., Dahl, J.E. (2000). Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. *Int. Dent. J.* 50, 361-366.
16. Özer L. (1997). The relation between gap size, microbial accumulation and the structural features of natural caries in extracted teeth with class II amalgam restorations. A stereo – and polarized light microscopic study. Copenhagen, 98p. PhD Thesis. School of Dentistry – Faculty of Health Sciences – University of Copenhagen Denmark.
17. Kidd, E.A. (2001). Diagnosis of secondary caries. *J. Dent. Educ.* 65, 997-1000.
18. Kotsanos, N., Darling, A.I. (1991). Influence of post-eruptive age of enamel on its susceptibility to artificial caries. *Caries Res.* 25, 241-250.

19. Nelson, D.G.A., Jongebloed, W.L., Arends, J. (1983). Morphology of enamel surfaces treated with topical fluorid agents: SEM considerations. *J. Dent. Res.* 62, 1201-1208.
20. Cury J.A., Chedid, S.J. (2004). Effect of 0.02% NaF solution on enamel demineralization and fluoride uptake by deciduous teeth in vitro. *Braz. Oral Res.* 18, 18-22.
21. Jiang H., Bian Z., Tai B.J., Du M.Q., Peng B. (2005). The effect of a bi-annual professional application of APF foam on dental caries increment in primary teeth: 24-month clinical trial. *J. Dent. Res.* 84, n. 3, p 265-268.
22. Cury J.A., Negri H.M.D. (2002). Dose-response effect of a dentifrice formulation with low fluoride concentration – an *in vitro* study. *Pesquisa Odontol. Bras.* 16, 361-365.
23. Rana R., Ithagarun A., King N.M. (2007). Effects of dentifrices on artificial caries like lesions: an *in vitro* pH cycling study. *Int. Dent. J.* 54, 243-248.
24. Derand, T., Birkhed, D., Edwardsson, S. (1991). Secondary caries related to various marginal gaps around amalgam restorations in vitro. *Swed. Dent. J.* 15, 133-138.
25. Fontana, M., Dunipace A.J., Gregory, R.L. et al. (1996). An in vitro microbial model for studying secondary caries formation. *Caries Res.* 30, 112-118.
26. Sá L.T., Gonzáles-Cabezas, C., Cochran, M.A., Fontana, M., Matis, B.A., Moore, B.K. (2004). Fluoride releasing materials: their anti-

- cariogenic properties tested in vitro caries models. *Oper. Dent.* 29, 524-531.
27. Yamamoto, H, Sato, K. (1980a). Prevention of dental caries by acousto-optically Q-switched Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 59, 137.
28. Yamamoto, H, Sato, K. (1980b). Prevention of dental caries by Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 59, 2171-2177.
29. Konishi, N., Fried, D., Staninec, M., Featherstone J.D.B. (1999). Artificial caries removal and inhibition of artificial secondary caries by pulsed CO2 laser irradiation. *Am. J. Dent.* 12, 213-16.
30. Silveira, B. L., Paglia A., Burnett L. H., Shinkai R. S., Eduardo C. P., Spohr A. M. (2005). Micro-tensile bond strength between a resin cement and an aluminous ceramic treated with Nd:YAG laser, Rocatec System, or aluminum oxide sandblasting. *Photomed. Laser Surg.* 23, 543-548.
31. Harazaki M., Hayakawa K., Fukui T., Isshiki Y., Powell, L. G. (2001). The Nd: YAG laser is useful in prevention of dental caries during orthodontic treatment. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 42, 79-86.



**INFLUÊNCIA DO LASER DE ALTA POTÊNCIA NA PREVENÇÃO DE EROSÕES
ARTIFICIAIS EM ESMALTE**

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a profundidade de desmineralização do esmalte, nas paredes cervical e oclusal, após a aplicação dos lasers de Nd:YAG e argônio. **Problema:** Lesões erosivas são comuns em indivíduos com distúrbios gastro-alimentares e podem levar à perda do esmalte dental. Não há relatos na literatura do uso de lasers como um tratamento preventivo desta situação clínica. **Materiais e métodos:** Trinta terceiros molares extraídos tiveram as coroas seccionadas em duas partes, vestibular e lingual; sendo cada face vestibular e cada face lingual seccionada no sentido ocluso-cervical, no centro da face, obtendo-se 4 hemifaces, as quais foram distribuídas em três grupos: o, **GRUPO I**, de controle, que não recebeu qualquer tratamento; o **GRUPO II**, tratado com o laser de Nd:YAG com 60 mJ, 15 pps, 0,9 W e 47,77 J/cm², por 30 segundos; e, enfim, o **GRUPO III**, tratado com o laser de argônio com 250 mW, 12 J/cm², por 48 segundos. Após a aplicação dos lasers, os fragmentos foram submetidos à ciclagem de pH 2,5 por 14 dias. Em seguida, foram obtidas lâminas histológicas de 60 a 100 µm para serem observadas em microscópio óptico de luz polarizada (n=21 por grupo). A profundidade de desmineralização foi mensurada (mm) e os resultados médios obtidos foram: 0,1881 A (controle oclusal); 0,1867 A (controle cervical); 0,1610 B (argônio oclusal); 0,1576 B (argônio cervical); 0,1529 B (Nd:YAG oclusal); 0,1481 B (Nd:YAG cervical). Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença estatística para ANOVA e Tukey (p<0,05). Foi possível concluir que o tratamento

com os lasers aumentou a resistência do esmalte ao ácido, podendo ser empregado como método preventivo frente a distúrbios gastro-alimentares. Além disso, não houve diferença na profundidade de desmineralização do esmalte nas paredes cervical e oclusal.

Palavras-chave: laser de argônio; laser de neodímio; ciclagem de pH; erosão química.

INTRODUÇÃO

Na Odontologia, o termo erosão é definido como a perda de substância da superfície mineralizada dos dentes através da ação de ácidos não oriundos de microrganismos¹. O aumento da prevalência desta manifestação clínica tem permitido a identificação de uma associação cumulativa danosa: o sinergismo entre o desgaste dos dentes por erosão e abrasão. O aumento da presença de dentes desgastados em populações idosas tem confirmado esta afirmação².

Não obstante, a incansável busca das pessoas por um corpo perfeito pode levar a doenças como anorexia e bulimia, apresentando vômitos freqüentes³ e, com isso, a exposição do esmalte dental ao pH de 2,5 do suco gástrico, causando erosão química da superfície.

A odontologia preventiva deve aliar-se de forma crescente à odontologia restauradora no intuito de tratar o paciente de forma integral, não apenas interferindo nas conseqüências, mas também nas causas. Neste contexto, se insere a abordagem da erosão dental. Dentre os agravantes para os altos índices de erosão nos países industrializados citam-se: a grande oferta de bebidas de baixo pH no mercado, a diversidade de frutas, a falta de orientação aos pacientes quanto aos cuidados antes e depois da ingestão deste tipo de dieta, bem como a ausência da visão multidisciplinar entre o médico e o cirurgião-dentista, no que diz respeito aos distúrbios gástricos e alimentares⁴.

A importância da multidisciplinaridade no diagnóstico da erosão é comentada por Nunn⁵ quando afirma que a inter-relação entre os profissionais da área médica e odontológica é imprescindível para o diagnóstico precoce de erosão, pois distúrbios psicossomáticos, como a anorexia e a bulimia nervosa, podem resultar em lesões típicas de perimólise.

Há diferentes metodologias que reproduzem o processo de desenvolvimento de lesões erosivas. Alguns autores utilizam o ácido ortofosfórico⁶; outros, utilizam a própria substância de consumo como, por exemplo, suco de laranja, chás ou refrigerantes para induzir a desmineralização^{7,8}, empregando tanto modelos *in vitro* quanto *in situ*^{9, 10}.

O crescente desenvolvimento e aprimoramento das técnicas e materiais odontológicos introduziram a tecnologia *laser* nas diversas especialidades da odontologia. Acredita-se que a sua aplicação sobre a estrutura dental seja capaz de promover uma superfície mais resistente aos desafios ácidos. Os lasers de Nd:YAG e argônio parecem modificar a estrutura cristalina do esmalte, transformando-a numa estrutura mais resistente ao ácido, ficando, desta forma, mais difícil o desenvolvimento de lesões de desmineralização^{11, 12, 13, 14}.

Face à importância de se resguardar preventivamente o esmalte dental submetido a constantes ataques ácidos, este trabalho teve como objetivo investigar a ação dos lasers frente a um pH ácido semelhante ao presente na cavidade oral de pacientes com distúrbios gástricos ou consumidores de bebidas de baixo pH e mensurar as profundidades de desmineralização das paredes oclusal e cervical das cavidades formadas.

Este trabalho partiu da hipótese nula de que não há diferença significativa entre os grupos estudados quanto à profundidade de desmineralização do esmalte.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparos dos dentes

Trinta terceiros molares humanos inclusos, extraídos por indicação terapêutica, foram obtidos no Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Os dentes foram armazenados em soro fisiológico a 4°C por um período máximo de seis meses, sendo a solução trocada semanalmente até a realização do experimento.

Os dentes foram embutidos em resina acrílica autopolimerizável e, após, seccionados no sentido do seu longo eixo com disco diamantado (Buehler, número 11-4243, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração, em uma máquina de corte (Labcut 1010, Extec, England), a fim de dividí-los em faces vestibular e lingual. As faces vestibular e lingual foram seccionadas no sentido ocluso-cervical, no centro do dente, obtendo-se 4 hemifaces de cada terceiro molar. As hemifaces foram divididas aleatoriamente em três grupos (40 hemifaces por grupo), que se diferenciaram pelo tipo de tratamento de superfície, da seguinte forma: **GRUPO I** – sem tratamento (controle); **GRUPO II** – aplicação do laser de Nd:YAG (Pulsemaster 1000, American Dental Technologies, Salt Lake City, UT, USA); e

GRUPO III – aplicação do laser de argônio (Accucure 3000, LaserMed Laser System, Salt Lake City, UT, USA). Em seguida, no esmalte das hemifaces foram irradiados os lasers estudados, exceto nos do grupo controle. A superfície de esmalte da amostra foi coberta com grafite e aplicado o laser de Nd:YAG ($\lambda=1064$ nm), com os parâmetros: 60 mJ, 15 pps, 0,9 W, $47,77 \text{ J/cm}^2$, em movimento de varredura, sem contato, durante 30 segundos por amostra. Para o laser de argônio ($\lambda=488$ nm) a superfície foi coberta com um gel a base de carbopol e corante vermelho (Whiteness HP, S.S.White) e irradiada de acordo com os parâmetros 250 mW, 12 J/cm^2 , durante 48 segundos. Após os procedimentos de tratamento de superfície, as hemifaces foram lavadas com jatos de ar/água e armazenadas em tubos eppendorf individuais contendo água deionizada, em estufa, a 37° C , por 24 horas.

Indução de erosão química artificial

Para padronizar a área que foi exposta à ciclagem de pH, todas as hemifaces foram cobertas com verniz (Colorama, São Paulo, SP, Brasil), deixando-se apenas uma área pré-estabelecida (3 mm no sentido cérvico-oclusal e 3 mm no sentido méso-distal) para ser exposta às soluções. Para conferir as medições foi utilizado um paquímetro digital (Mitutoyo, Suzano, SP, Brasil).

As hemifaces de cada grupo foram submetidas ao modelo dinâmico de ciclagens de desmineralização e remineralização, onde cada ciclo consistiu em imersão em solução desmineralizante (2,0 mmol/L de cálcio, 2,0 mmol/L de fosfato e 75 mmol/L de acetato em pH de 2,5) por seis horas, depois lavagem em água

deionizada, secagem com jatos de ar e imersão em solução remineralizante (1,5 mmol/L de cálcio, 0,9 mmol/L de fosfato, 150 mmol/L de cloreto de potássio e 20 mmol/L de tampão tris em pH 7,0) por dezoito horas a 37°C. Então, foram novamente lavadas, secas e imersas na solução desmineralizante até a conclusão dos quatorze ciclos de pH, que duraram quatorze dias. As duas soluções, desmineralizante e remineralizante, foram trocadas diariamente durante este período, sendo padronizada a quantidade em 30 ml por grupo.

Após o término das ciclagens de pH, os fragmentos foram preparados para avaliação em microscópio de luz polarizada.

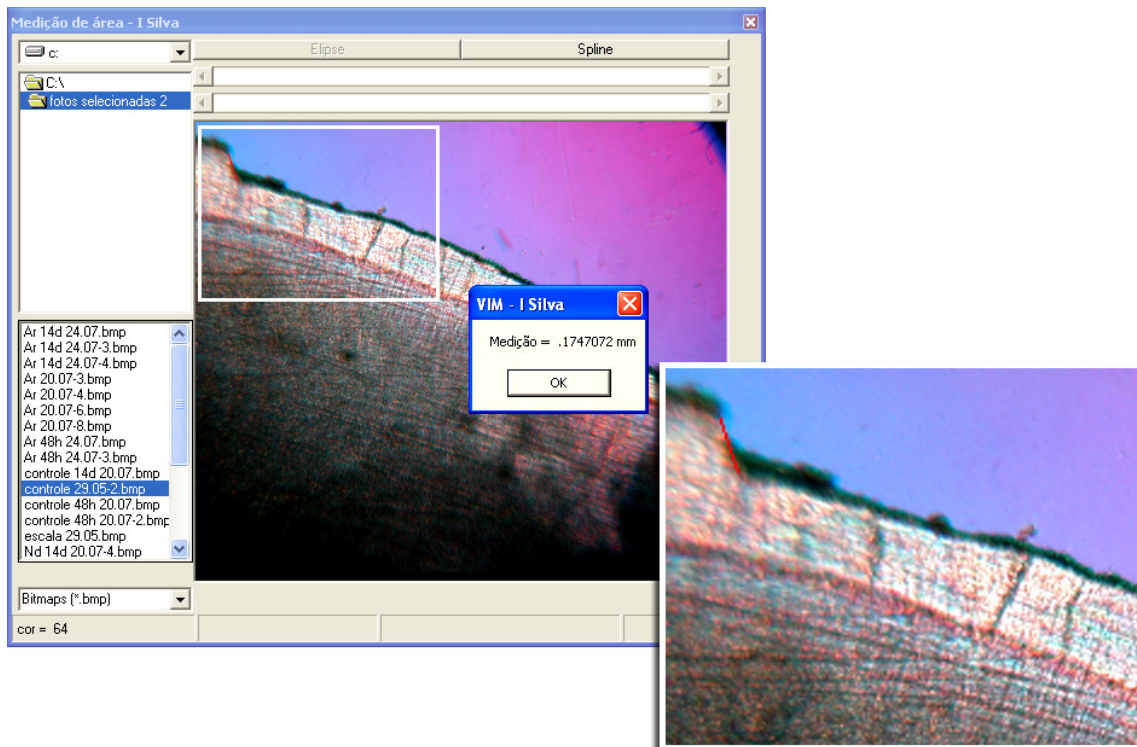
Obtenção das lâminas histológicas

As hemifaces foram fixadas com cera (Kota, São Paulo, SP, Brasil) em uma matriz de acrílico medindo 4 cm de altura x 4 cm de largura x 0,8 cm de espessura e, depois, cortadas em fatias com disco diamantado (Buehler, número 11-4243, Lake Bluff, IL, EUA), acoplado em uma máquina de corte (Labcut 1010, Extec, Inglaterra), no sentido esmalte-dentina, sob refrigeração com água deionizada, com uma velocidade de 150 rpm. As fatias foram desgastadas manualmente com lixas d'água abrasivas de granulação 600 e 1200 ficando com uma espessura final de 60 a 100 μm a qual foi aferida com um paquímetro digital (Mitutoyo, Suzano, São Paulo, Brasil). As fatias obtidas ficaram imersas em água deionizada, até a observação em microscópio óptico.

Análise em microscopia de luz polarizada com contraste interferencial

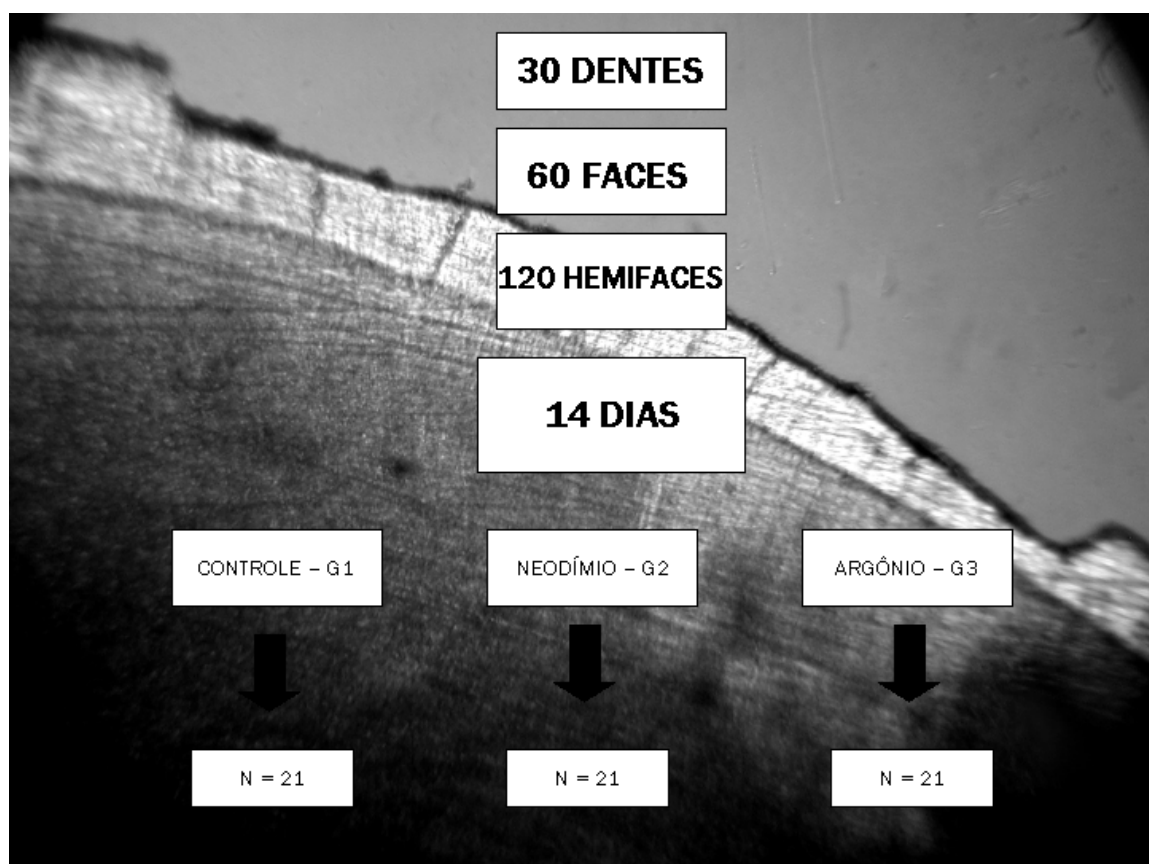
As lâminas foram montadas com água deionizada e observadas em microscópio óptico (DMRHC, Leica, Wetzlar, Alemanha) com aumento de 5 vezes, equipado com sistema de contraste interferencial, onde foram analisadas as áreas de desmineralização em esmalte. As imagens foram registradas através de uma máquina digital (modelo 990, Nikon, Tóquio, Japão) acoplada ao microscópio e, posteriormente, analisadas por meio do Software VIM-I (Faculdade de Engenharia, PUCRS, Brasil), onde a profundidade da lesão foi mensurada em mm, nas paredes cervical e oclusal (Figura 1). Foram realizadas três medidas para cada amostra em três semanas consecutivas para que se obtivesse uma média por amostra. O examinador desconhecia os grupos aos quais os espécimes pertenciam. Foram analisadas 21 amostras por grupo. Para verificar a reprodutibilidade intra-examinador, foi selecionada uma imagem de cada grupo, a qual recebeu cinco medições, uma vez por semana, durante três semanas. Essas medições foram submetidas à Análise de Variância para determinar se havia diferença entre os dias avaliados, sendo a igualdade entre os dias determinada por $p > 0,05$. Um exemplo desta avaliação preliminar encontra-se no apêndice F. Em seguida, as médias obtidas foram analisadas com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido dos testes Anova com dois fatores fixos (tratamento de superfície e paredes oclusal e cervical) e Tukey ($p < 0,05$) (Statistix for Windows, FL, EUA).

Figura 1. Mensuração da profundidade da lesão de cárie (mm), através do software VIM-I.



A linha demarcada corresponde à medida linear da profundidade de desmineralização da parede oclusal.

Figura 2. Organograma de distribuição das amostras. Cada dente foi dividido em quatro hemifaces que foram aleatoriamente distribuídas em três grupos. Após o preparo das amostras, foram selecionadas vinte e uma fatias para serem analisadas em cada grupo.



RESULTADOS

Observa-se na Tabela 1 que, em comparação aos grupos controle, tanto na região oclusal quanto na cervical, os lasers de Nd:YAG e argônio apresentaram menores valores de desmineralização do esmalte ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Comparação dos valores médios de profundidade de desmineralização do esmalte dental, em mm, irradiado pelos lasers e submetido à ciclagem de pH.

Tratamentos	Profundidade de desmineralização (mm)	Desvio-Padrão
Controle Oclusal	0,1881 A	0,0248
Controle Cervical	0,1867 A	0,0429
Argônio Oclusal	0,1610 B	0,0192
Argônio Cervical	0,1576 B	0,0885
Nd:YAG Oclusal	0,1529 B	0,0246
Nd:YAG Cervical	0,1481 B	0,0338

*O valor crítico de Tukey para comparação entre as médias é 0,01.

**Médias seguidas de letras distintas diferem entre si para Anova e Tukey ($p < 0,05$).

E, observando-se a tabela 2 e comparando as figuras 3, 4 e 5, percebe-se que os elementos dos grupos tratados com os lasers de argônio e neodímio apresentaram menor média de profundidade de desmineralização do esmalte, diferindo estatisticamente do grupo controle.

Tabela 2 - Desempenho geral dos lasers irradiados no esmalte dental submetido à ciclagem de pH, considerando as paredes oclusal e cervical agrupadas.

Tratamentos	Profundidade de desmineralização (mm)
Controle	0,1874 A
Argônio	0,1569 B
Neodímio	0,1529 B

*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si para Anova e Tukey ($p < 0,05$).

Figura 3. Superfície do esmalte sem tratamento e submetido à ciclagem de pH (aumento de cinco vezes).

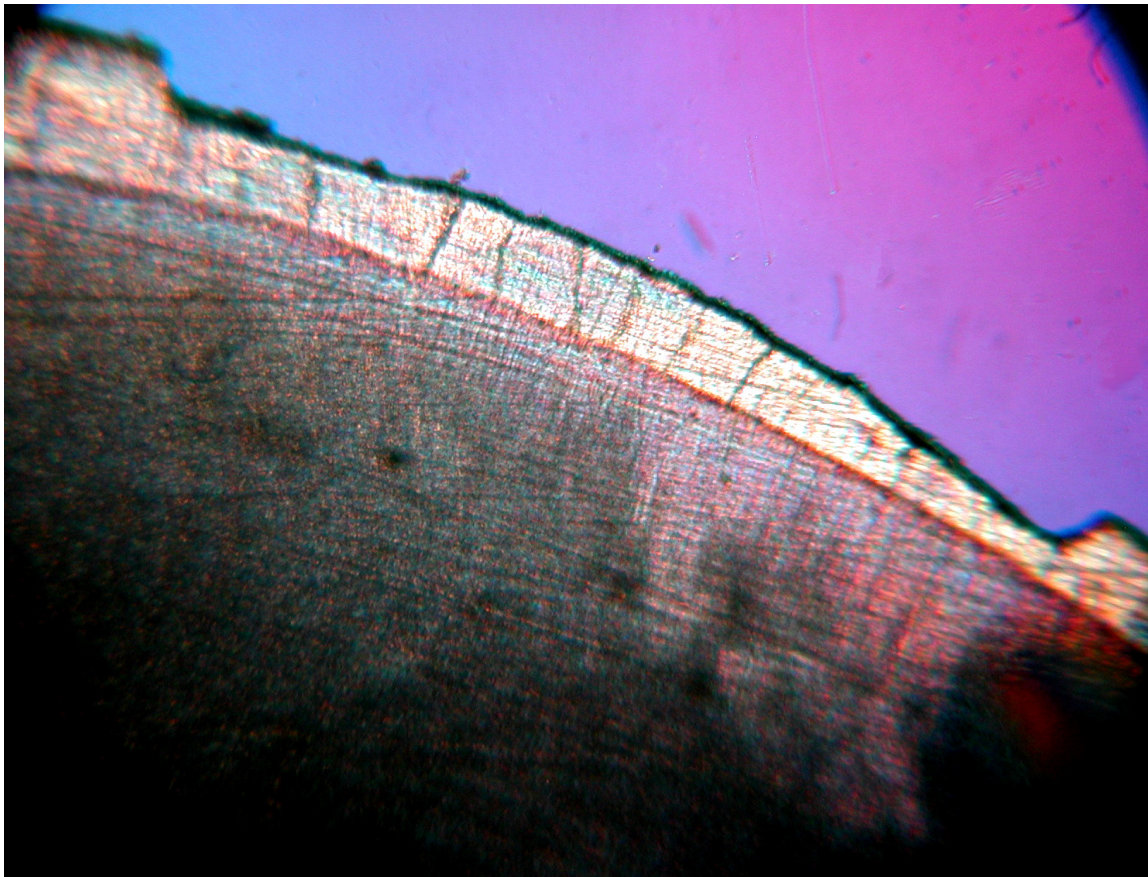


Figura 4. Superfície do esmalte após tratamento com laser de neodímio e ciclagem de pH (aumento de cinco vezes).

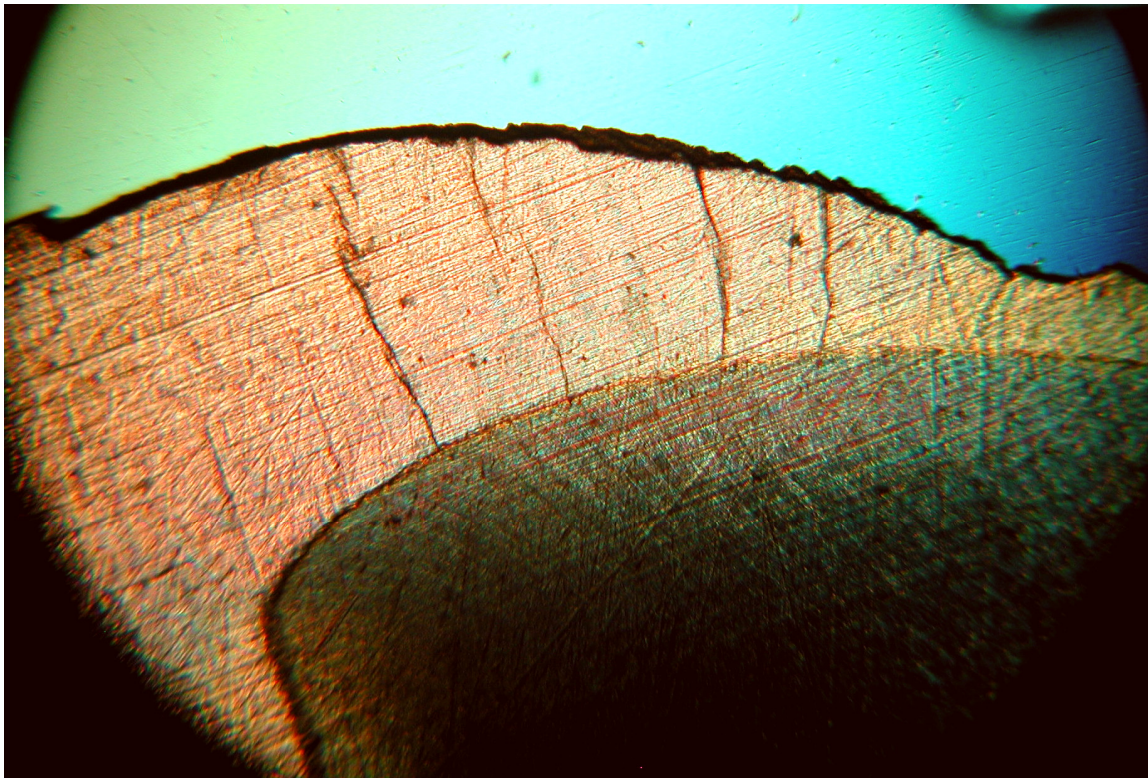
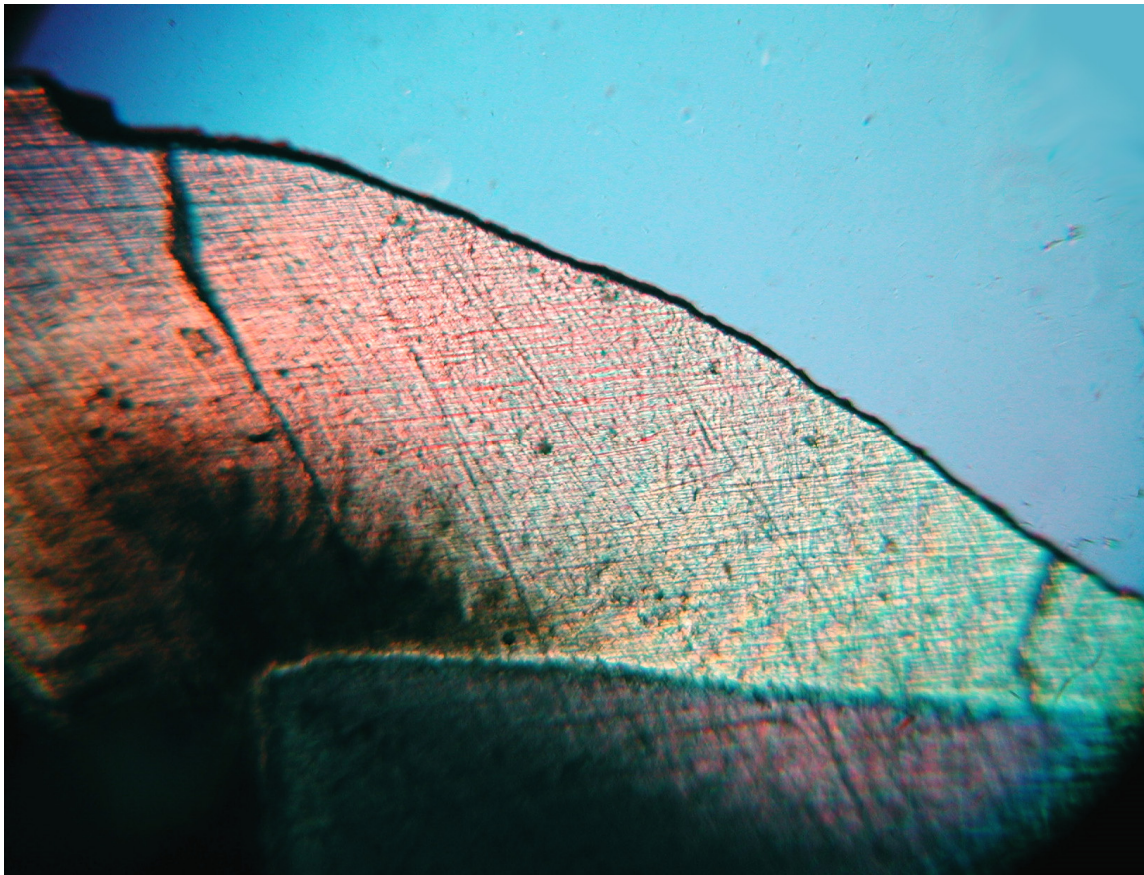


Figura 5. Superfície do esmalte após tratamento com laser de argônio e ciclagem de pH (aumento de cinco vezes).



DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, rejeitamos a hipótese inicial deste estudo, na qual não haveria diferenças entre os grupos na profundidade de desmineralização do esmalte.

Constatou-se que ambos os lasers foram efetivos em diminuir a profundidade de desmineralização do esmalte quando comparados ao grupo controle, sem tratamento de superfície. Para o correto entendimento de como ocorre esta proteção, devemos observar o desenvolvimento do processo patológico da erosão de esmalte, cujos fatores etiológicos se subdividem em: extrínsecos, intrínsecos e idiopáticos. Os extrínsecos referem-se aos ácidos de origem exógena, como dieta (frutas e bebidas ácidas), meio ambiente (indústrias químicas e piscinas cloradas) e medicamentos (vitamina C, aspirina e ácido clorídrico). Enquanto que, para os intrínsecos, citam-se os ácidos oriundos do estômago, mais especificamente, da regurgitação do suco gástrico ou diminuição do fluxo salivar. E, ainda, são mencionados os fatores idiopáticos, que são ácidos de origem desconhecida^{3, 15}.

Apesar da erosão dental ser mais evidente na face palatina dos dentes anteriores de adolescentes¹⁶, provavelmente pelo tempo de exposição e freqüência em que são atingidos pelos fatores etiológicos da lesão, a ocorrência de erosões em dentes posteriores também tem aumentado, em alguns casos levando à perda da dimensão vertical e tornando o tratamento bastante complicado². Attin et al.¹⁷ afirmam que, nos últimos anos, a prevalência da lesão é crescente também em crianças e adultos. Zero¹⁵ explica o fato ao concluir que a lesão é de origem multifatorial, podendo estar associada à freqüente ingestão de refrigerantes e sucos industrializados que têm pH ácido. Em crianças, o risco é maior, quando se trata da ingestão das substâncias desencadeadoras da erosão através da mamadeira, pois esta possibilita uma exposição maior e prolongada nas superfícies dentárias¹⁶. Attin et al.¹⁷ ratificam a alta prevalência da lesão entre

crianças e adolescentes, afirmando que cerca de 20 a 60% destes apresentam erosão dental.

Considerando as medidas preventivas para a erosão dental, a melhor recomendação seria evitar o ataque ácido. Entretanto, se a origem do ácido não pode ser identificada, não é possível evitá-lo, como, por exemplo, em casos de refluxos e vômitos crônicos. Então, outras medidas preventivas se fazem necessárias¹⁸.

Em sua maioria, as bebidas consumidas no mundo são causadoras de erosão. O tipo de ácido que compõe as bebidas também interfere na desmineralização, pois estudos têm demonstrado que o ácido cítrico apresenta maior potencial erosivo do que o ácido maléico, por exemplo¹⁹. Em um estudo realizado por Phelan e Rees⁸, analisando o pH de diversas bebidas, observou-se que os chás (pH = 3,15 - 3,78) e refrigerantes como a Coca-Cola (pH = 3,15) apresentavam poder erosivo semelhante. Em outro estudo similar²⁰, o pH da Coca-Cola foi aferido em 2,5 e o do suco de laranja em 2,9. Avaliando o potencial erosivo de bebidas esportivas sobre os tecidos duros dentais, Buratto et al.²¹ encontraram uma variância de pH de 2,92 a 3,38 entre elas, o que deu margem à conclusão de que todas possuem grandes potenciais erosivos, independentemente do pH apresentado. O pH (2,5) do presente estudo foi estabelecido a partir de uma média aproximada dos estudos reportados na literatura.

A suscetibilidade à cárie é maior logo após a erupção do dente e diminui com a idade²². A superfície do esmalte de dentes não erupcionados apresenta mais porosidades e menor conteúdo mineral do que dentes já erupcionados²³.

Kotsanos e Darling²² avaliaram, *in vitro*, a suscetibilidade à cárie de dentes não erupcionados e outros já erupcionados, com diferentes tempos de exposição ao meio bucal. Os resultados indicaram uma redução na ocorrência de lesões de cárie proporcional ao aumento do tempo de exposição do dente ao meio bucal, principalmente nos primeiros três anos pós-eruptivos. Devido a essa grande variabilidade, foi decidido empregar na pesquisa terceiros molares inclusos com indicação de exodontia e realizar um estudo *in vitro*.

O nome do laser é determinado pelo meio ativo, que pode ser sólido (rubí, Nd:YAG, Er:YAG, Ho:YLF), líquido (Rodamina) ou gasoso (CO₂, Ar, He-Ne, Ar-F). O meio ativo contém uma população homogênea de átomos ou moléculas que serão excitadas e estimuladas para produzir a emissão do laser. As proximidades dos comprimentos de onda do tecido alvo e do laser permitem uma melhor ação da luz na superfície a ser irradiada. Assim, os diferentes tipos de lasers apresentam aplicações clínicas de acordo com a sua capacidade de interação com um tecido em particular. O tempo de exposição e a densidade de energia administrada vão determinar a quantidade e extensão da interação²⁴.

Os efeitos da energia laser sobre o esmalte para prevenção de cáries têm sido pesquisados com diferentes tipos de lasers e parâmetros de irradiação. Os lasers mais utilizados nas pesquisas sobre prevenção de cárie são o Nd:YAG e o CO₂, sendo o primeiro mais recomendado devido à sua fácil manipulação²⁵ e aos altos índices de resistência à descalcificação ácida do esmalte encontrados após a sua aplicação^{26, 27}. A irradiação com laser de argônio também pode ser utilizada para modificar a hidroxiapatita e deixá-la mais resistente à dissolução pelo

ácido^{13,14}, além de apresentar a vantagem de ser um laser de médio porte e fácil manipulação.

Existe uma grande discussão no que diz respeito aos parâmetros de irradiação dos lasers com o intuito preventivo, não havendo consenso na literatura a respeito dos protocolos a serem utilizados. Visto que cada equipamento tem uma ponteira de irradiação do laser com diâmetro diferente, a densidade de energia é alterada e, com isso, a intensidade de energia e a frequência devem ser modificadas de acordo com a unidade laser utilizada. Como regra geral, uma pesquisa aprofundada dos parâmetros que podem promover efeitos deletérios deve ser o passo inicial, uma vez que a presença de carbonização, superaquecimento da superfície e trincas promovidos pela ação do laser não devem ser efeitos desejados. Para os dois lasers utilizados nesta pesquisa, o uso de baixas intensidades de energia promove, segundo a literatura, diferentes modificações morfológicas superficiais no esmalte: para o laser de argônio, estruturas globulares, que parecem funcionar como depósitos de minerais, que servem para defender a estrutura frente a ataques acidogênicos²⁸; para o Nd:YAG, o derretimento ou “*melting*” dos prismas de esmalte²⁵. Tal fato, em um primeiro momento, poderia ser um diferencial no padrão de comportamento de desmineralização da superfície. No entanto, talvez devido à ciclagem em baixo pH, estas estruturas de superfície tenham sido removidas nivelando o esmalte dos dois grupos.

Não obstante, em diversos estudos, o uso do flúor associado ao laser é um fator confundente, uma vez que não se sabe a real contribuição da luz por si só na prevenção. Por considerarmos que a presença do flúor não é um antídoto

definitivo, e sim um auxiliar no processo de retardo da dissolução do esmalte, acreditamos que o uso de corantes sem efeitos terapêuticos pode ser uma alternativa ao uso do flúor, ainda com a vantagem de não serem fármacos. Assim, para o laser de argônio, a superfície foi coberta com um gel a base de carbopol e corante vermelho, e irradiada com os parâmetros de: 250 mW, 12 J/cm², durante 48 segundos. Devido ao fato do comprimento de onda do corante utilizado ser de 600 nm e do laser ser de 488 nm, há uma maior absorção da luz do laser de argônio na superfície do esmalte, impedindo sua transmissão através da estrutura dental, fato que poderia gerar um efeito deletério. O mesmo verifica-se para o grupo irradiado com Nd:YAG, no qual a sua irradiação laser emitida tem grande afinidade com tecidos pigmentados. Assim, a superfície de esmalte foi coberta por grafite, conforme preconizado por Tagamori & Morioka²⁵ e Silveira et al.²⁹.

Os resultados deste trabalho (Tabela 2) demonstraram que quando todas as medições foram analisadas, as amostras do grupo controle (0,18mm) (Figura 3) apresentaram uma média da profundidade de desmineralização maior do que as amostras dos grupos tratados com os lasers (0,15mm para o argônio (Figura 5) e 0,15 mm para o neodímio (Figura 4)). Fazendo um paralelo, as aplicações do laser de neodímio^{11, 12} e do laser de argônio^{13, 14} também se mostraram eficientes para a prevenção de lesões cariosas em esmalte. Quando avaliadas as paredes oclusal e cervical separadamente, os grupos controles apresentaram médias estatisticamente maiores de profundidade de desmineralização do esmalte do que os grupos tratados com laser (Tabela 1).

Seria interessante a realização de futuros estudos, empregando outras tecnologias para a prevenção de erosões ácidas, como a utilização dos lasers de diodo e CO₂.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, com a metodologia empregada nesta pesquisa, foi possível concluir que:

- Os tratamentos com os lasers de argônio e neodímio diminuíram a profundidade de desmineralização do esmalte, frente à solução ácida com pH 2,5.
- Não há diferença no grau de desmineralização entre as paredes cervical e oclusal da cavidade formada pela solução ácida, com pH 2,5.

SUMMARY

Aim: The aim of this *in vitro* study was to investigate the effect of Nd:YAG and argon laser irradiations on the enamel acid demineralization by a chemical laboratory model to simulate acid erosion lesions. **Summary background data:** Erosive lesions in enamel are frequently found in patients with gastric-alimentary disturbs. There are no studies examining the use of lasers to prevent enamel erosions. **Methods and materials:** Third extracted human third molars were sectioned into tooth quarters. The quarters were distributed in three groups: **GROUP I** (control), non-treated; **GROUP II** received the Nd:YAG laser irradiation with the following protocol: 60 mJ, 15 pps, 0.9 W e 47.77 J/cm^2 , 30 seconds; and **GROUP III** received the argon laser irradiation with the following protocol: 250 mW, 12 J/cm^2 , 48 seconds. The surfaces were covered with an acid resistant varnish to be immersed in standard acidified buffer solutions. The tooth quarters were submitted to a pH cycling: 14-day remineralization (6 hours) and demineralization (pH 2,5 - 18 hours) solutions, 37°C . The samples were prepared in slices (60 to $100 \mu\text{m}$) to be evaluated by polarized light microscopy. The demineralizations depths were measured in mm (n=21). **Results:** Means followed by different letters are significantly different to ANOVA and Tukey's test ($p < 0,05$): 0.1881 A (control occlusal); 0.1867 A (control cervical); 0.1610 B (argon occlusal); 0.1576 B (argon cervical); 0.1529 B (Nd:YAG occlusal); 0.1481 B (Nd:YAG cervical). **Conclusions:** The results suggest that the treatment with lasers increased the enamel acid

demineralization resistance, so it can be indicated to prevent gastric-alimentary disturbs.

Keywords: argon laser; Nd:YAG laser; pH cycling, chemical erosion.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ten Cate J.M., Infeld T. (1996). Dental erosion, summary. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 241-244.
2. Pontefract, H.A. (2002). Erosive toothwear in the elderly population. *Gerodontology.* 19, 5-16.
3. Scheutzel, P. (1996). Etiology of dental erosion – intrinsic factors. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 178-190.
4. Infeld, T. (1996). Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 151-155.
5. Nunn, J.H. (1996). Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 156-161.
6. Hall, A.F., Sadler, J.P., Strang, R., De Josselin De Jong, E., Foye, R.H., Creanor, S.L. (1997). Application of transverse microradiography for measurement of mineral loss by acid erosion. *Adv. Dent. Res.* 11, 420-425.

7. Amaechi, B.T., Higham, S.M., Edgar, W.M. (1999). Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J. Oral Rehabil.* 26, 624-630.
8. Phelan, J., Rees, J. (2003). The erosive potential of some herbal teas. *J. Dent.* 31, 241-246.
9. Ganss, C., Klimek, J., Brune, V., Schurmann, A. (2004). Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 38, 561-566.
10. Hunter, M.L., West, N., Hughes, J.A., Newcombe, R.G., Addy, M. (2000). Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment. *J. Dent.* 28, 257-263.
11. Pelino, J.E.P., Melo, J.B., Eduardo C.P., Jorge, A.O.C. (1999). In vivo study of the Nd:YAG laser effect on human dental enamel: optical and scanning electron microscope analysis. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 17, 171-177.
12. Hossain, M., Nakamura, Y., Kimura, Y., Yamada, Y., Kawanaka, T., Matsumoto, K. (2001). Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 19, 105-108.
13. Hicks, J., Winn, D., Flaitz, C., Powell, L. (2004). In vivo caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment: a clinical pilot study. *Quintessence Int.* 35, 15-20.

14. Westerman, G. H., Hicks, M.J., Flaitz, C., Powell, G.L. (2004). In vitro enamel caries formation: argon laser, light-emitting diode and apf treatment effect. *J. Dent.* 17, 383-387.
15. Zero, D.T. (1996). Etiology of dental erosion – extrinsic factors. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 162-177.
16. Smith, A.J., Shaw, L. (1987). Baby fruit juices and tooth erosion. *Br. Dent. J.* 162, 65-67.
17. Attin, T., Meyer, K., Hellwig, E., Buchalla, W., Lennon, A.M. (2003). Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. *Arch. Oral Biol.* 48, 753-759.
18. Ganss C., Klimek J., Schaffer U., Spall T. (2001). Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 35, 325-330.
19. Meurman, J.H., Harkonen, M., Naveri, H. et al. (1990). Experimental sport drinks with minimal dental erosion effect. *Scand. J. Dent. Res.* 98, 120-128.
20. Stephan, R.M. (1966). Effects of different types of human foods on dental health in experimental animals. *J. Dent. Res.* 45, 1551-1561.
21. Buratto, E.M., Andrade, L., Rath, I.B.S., Tames, D.R. (2002). Evaluation of the erosive potential of the Brazilian sport drinks to the dental hard tissues. *Rev. ABO Nac.* 10, 109-112.
22. Kotsanos, N., Darling, A.I. (1991). Influence of post-eruptive age of enamel on its susceptibility to artificial caries. *Caries Res.* 25, 241-250.

23. Nelson, D.G.A., Jongebloed, W.L., Arends, J. (1983). Morphology of enamel surfaces treated with topical fluorid agents: SEM considerations. *J. Dent. Res.* 62, 1201-1208.
24. Dederich, D.N. (1993). Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? *J. Am. Dent. Assoc.* 124, 57-61.
25. Tagomori, S., Morioka, T. (1989). Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.* 23, 225-231.
26. Yamamoto, H, Sato, K. (1980a). Prevention of dental caries by acousto-optically Q-switched Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 59, 137.
27. Yamamoto, H, Sato, K. (1980b). Prevention of dental caries by Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 59, 2171-2177.
28. Westerman, G.H., Hicks, M.J., Flaitz, C., Powell, G.L., Blankenau R.J. (1996). Surface morphology of sound enamel after argon laser irradiation: an in vitro scanning electron microscopic study. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 21, 55-59.
29. Silveira, B.L., Paglia, A., Burnett, L.H., Shinkai, R.S., Eduardo, C.P., Spohr, A.M. (2005). Micro-tensile bond strength between a resin cement and an aluminous ceramic treated with Nd:YAG laser, Rocatec System, or aluminum oxide sandblasting. *Photomed. Laser Surg.* 23, 543-548.

Anexos

APÊNDICE A - Relatório da mensuração da área (mm²) de desmineralização do esmalte.

C-48h	C-14d	A-48h	A-14d	N-48h	N-14d
0,35	0,28	0,05	0,02	0,05	0,14
0,36	0,1	0,15	0,08	0,02	0,24
0,38	0,12	0,14	0,08	0,12	0,12
0,2	0,13	0,13	0,01	0,11	0,26
0,26	0,16	0,28	0,13	0,23	0,2
0,48	0,21	0,13	0,01	0	0,11
0,23	0,12	0,08	0,12	0,04	0,24
0,17	0,13	0,25	0,03	0,05	0,19
0,13	0,2	0,1	0,01	0,21	0,1
0,14	0,13	0,11	0,16	0,16	0,23
0,06	0,44	0,11	0,1	0,03	0,13

C – controle
 A – argônio
 N – neodímio
 48h – 48 horas
 14d – 14 dias

**APÊNDICE B - Relatório da mensuração da profundidade (mm)
de desmineralização do esmalte.**

C-oclusal	C-cervical	N-oclusal	N-cervical	A-oclusal	A-cervical
0,23	0,13	0,15	0,16	0,14	0
0,2	0,14	0,19	0,21	0,16	0
0,17	0,18	0,19	0,15	0,14	0,17
0,22	0,24	0,16	0,15	0,18	0,17
0,17	0,21	0,18	0,17	0,17	0,15
0,21	0,17	0,12	0,18	0,18	0,25
0,17	0,19	0,12	0,13	0,15	0,16
0,18	0,18	0,18	0,13	0,13	0,12
0,15	0,2	0,17	0,14	0,16	0,13
0,18	0,19	0,16	0,1	0,19	0,2
0,21	0,27	0,12	0,12	0,14	0,17
0,2	0,25	0,17	0,12	0,17	0,21
0,16	0,22	0,14	0,13	0,14	0,26
0,16	0,25	0,18	0,06	0,19	0,25
0,18	0,21	0,15	0,16	0,17	0,21
0,17	0,16	0,15	0,16	0,13	0,16
0,23	0,18	0,13	0,19	0,18	0,1
0,18	0,15	0,2	0,16	0,16	0,25
0,22	0,14	0,13	0,19	0,17	0
0,2	0,12	0,15	0,17	0,15	0,25
0,16	0,14	0,17	0,13	0,18	0

C – controle
A – argônio
N – neodímio

APÊNDICE C –

Tabela do teste ANOVA - Artigo 1

Analysis of Variance Table for medidas

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.15121	0.07561	10.32	0.0001
ciclo	1	0.00510	0.00510	0.70	0.4074
tratament*ciclo	2	0.08761	0.04381	5.98	0.0043
Error	60	0.43938	0.00732		
Total	65	0.68330			

Grand Mean 0.1521 CV 56.25

APÊNDICE D –

Tabela do teste ANOVA – Artigo 2

Analysis of Variance Table for medida

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.02992	0.01496	7.22	0.0011
parede	1	0.00127	0.00127	0.61	0.4351
tratament*parede	2	0.00039	0.00020	0.09	0.9097
Error	120	0.24850	0.00207		
Total	125	0.28009			

Grand Mean 0.1657 CV 27.46

APÊNDICE E



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 1304/07-CEP

Porto Alegre, 07 de novembro de 2007.

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS
apreciou e aprovou protocolo de pesquisa registro CEP 07/03886, intitulado:
"Influência do laser de alta potência na inibição de cáries artificiais em
esmalte".

Sua investigação está autorizada a partir da
presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser
entregues a este CEP.

Atenciosamente



Prof. Dr. José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Prof Luiz Henrique Burnett Junior
N/Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000
Sala 314 – Fone Fax: (51) 3320-3345
E-mail: cep@pucrs.br
www.pucrs.br/prppg/cep

APÊNDICE F –

One-Way AOV for: d1 d2 d3

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	2	0.00001	3.685E-06	0.03	0.9662
Within	12	0.00128	1.067E-04		
Total	14	0.00129			

Grand Mean 0.3099 CV 3.33

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	0.19	2	0.9106
Cochran's Q	0.3835		
Largest Var / Smallest Var	1.5310		

Component of variance for between groups -2.062E-05
 Effective cell size 5.0

Variable	Mean
d1	0.3096
d2	0.3109
d3	0.3092
Observations per Mean	5
Standard Error of a Mean	4.621E-03
Std Error (Diff of 2 Means)	6.535E-03