

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNICAMP**

ANDRÉ LUIZ LUX KLEIN

**EFEITO DO LASER DE CO₂ NA INIBIÇÃO DE CÁRIE EM ESMALTE
ADJACENTE A RESTAURAÇÕES DE RESINA COMPOSTA -
ESTUDO *IN VITRO***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas,
para a obtenção do título de Mestre em Odontologia,
área de concentração Cariologia.

**PIRACICABA
2002**

i

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

ANDRÉ LUIZ LUX KLEIN

**EFEITO DO LASER DE CO₂ NA INIBIÇÃO DE CÁRIE EM ESMALTE
ADJACENTE A RESTAURAÇÕES DE RESINA COMPOSTA -
ESTUDO *IN VITRO***

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CPG, 09/05/2002
Assinatura do Orientador:

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Cariologia.

Orientadora: Profa. Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Prof. Dr. Márcio Grama Hoepfner

Profa. Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa

**PIRACICABA
2002**

JNIDADE BP
Nº CHAMADA UNICAMP
K672e
V _____ EX _____
TOMBO BCI 50125
PROC 16.837102
C _____ DV _____
PREÇO R\$ 11,00
DATA 3/10/102
Nº CPD _____

CM00171063-B

31810 248367

Ficha Catalográfica

K672e Klein, André Luiz Lux.
Efeito do laser de CO₂ na inibição de cárie em esmalte adjacente a restaurações de resina composta – estudo *in vitro*. / André Luiz Lux Klein. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2002.
xiii, 85f. : il.

Orientadora : Profª Drª Marinês Nobre dos Santos Uchôa.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Cavidade dentária. 2. Adesivos dentários. 3. Cáries dentárias. 4. Lasers. I. Uchôa, Marinês Nobre dos Santos. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 25 de Fevereiro de 2002, considerou o candidato ANDRÉ LUIZ LUX KLEIN aprovado.

1. Profa. Dra. MARINES NOBRE DOS SANTOS UCHOA

2. Prof. Dr. MARCIO GRAMA HOEPPNER

3. Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY

200234967

*Dedico este trabalho a minha esposa **Carolina**, por sua elevada competência em executar as tarefas familiares na minha ausência e responsável por hoje eu ser um pai orgulhoso.*

*Aos meus filhos **Leonardo** e **Murilo**, pelo sinônimo mais simples do amor puro e verdadeiro.*

Muito obrigado.

Aos meus pais, **Jahy** e **Lila**, que por seus exemplos de vida e pelo imensurável incentivo durante minha formação profissional, possibilitaram este momento.

Ao meu Sogra e sogra, **Tavares** e **Zilne**, pessoas as quais eu tenho grande respeito e admiração, e que sem as vossas ajudas provavelmente não teria alcançado esta vitória.

Agradecimentos Especiais

A Profa. Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa, que além da preciosa e competente orientação, revelou-se uma pessoa capaz de discernir que a Pós-Graduação não é nossa vida e sim parte dela, preocupando-se sempre com o meu bem estar e de minha família. A ela todo o meu carinho, admiração e eterno agradecimento.

Ao Prof. Carlos de Paula Eduardo, por abrir as portas do Laboratório Experimental de Laser em Odontologia - LELO/FOUSP possibilitando o intercâmbio com esta instituição, e desta forma a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Magnífico Reitor da Universidade Paranaense - UNIPAR, **Dr. Candido Garcia**, pessoa com grande percepção, apoiando e mantendo projetos de capacitação docentes com recursos próprios.

A **Universidade Paranaense - UNIPAR**, nas pessoas da Diretora de Recursos Humanos Sonia Regina da Costa de Oliveira, e do coordenador Prof. Dr. Marcio Grama Hoepfner, que com visão administrativa e empenhados na capacitação do quadro de professores desta Instituição de Ensino, permitiram a concessão da bolsa de estudo e a liberação para a executar as atividades com a Pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Ronaldo Maia Melhado**, diretor do Instituto de Ciências e Técnicas Odontológicas da Universidade Paranaense, pelo solidariedade neste momento.

Ao **Prof. Marcio Grama Hoepfner**, por ser um referencial e incentivar-me em minha vida acadêmica, pelos conhecimentos transmitidos durante o nosso convívio, assim como o exemplo de honestidade, dedicação.

Ao Magnífico Reitor da Unicamp, **Prof. Dr. Hermano Ferreira de Medeiros Tavares.**

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP**, na pessoa do seu Diretor, Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, instituição onde cursei a pós-graduação.

À **Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury**, Coordenadora dos cursos de Pós-graduação da FOP/UNICAMP, pela sua competente administração,

Ao **Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela preocupação na transferência de conhecimentos.

Ao **Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY** Coordenador da área de concentração em Cariologia, do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela busca incansável na melhoria na qualidade ensino deste programa de Pós-Graduação, e por disponibilizar toda a estrutura do laboratório de Bioquímica Oral para a realização de nossa pesquisa

Aos **docentes do Curso de Pós-Graduação** em Odontologia da FOP-UNICAMP, pelo convívio e ensinamentos recebidos.

Aos membro participantes da banca de qualificação deste trabalho, **Prof. Dra. Cíntia P. M. Tabchoury, Prof. Dr. Luiz André Freire Pimenta, Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves**, os quais contribuíram de maneira direta para a melhoria na qualidade deste trabalho.

Aos professores e colegas das Disciplinas de Dentística da Universidade Paranaense, **Marcio, Stella, Oscar, Renata, Fernanda, Sueli e Fabiana**, que incentivaram meus primeiros passos científicos.

Aos Técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral da FOP/UNICAMP, em especial ao **Sr. José Alfredo da Silva (Fofão)**, pela análise da concentração de flúor nas soluções utilizadas neste estudo.

Ao Coordenador dos laboratórios da área da saúde da Universidade Paranaense –UNIPAR, **Prof. Edson de Azevedo Ribeiro** o qual disponibilizou sem medir esforços a estrutura desta instituição, possibilitando a excussão de parte deste trabalho.

À Bibliotecária da FOP/UNICAMP, **Marilene Girello**, pela colaboração na correção das referências bibliográficas.

Às secretárias **Elisa, Sônia e Érika**, pela atenção em todas as fases administrativas

Aos amigos e companheiros de turma **Andréa, Adriana, Fábio Mialhe, Fábio Koslowsk, Iriana, Lidiany, Luciane, Marcelle, Márcia, Roberta, Rosane, Vanessa e Viviane** que tornaram minha vinda a Piracicaba mais alegre, compartilhando momentos agradáveis.

Ao amigo, **Prof. Laerte Luiz Bremm**, pelos momentos de descontração em meio a tantas atribuições e por ser uma pessoa que de uma maneira direta incentivou minha carreira docente.

Ao amigo de apartamento e do Mestrado, **Fábio Carlos Koslowisk**, pela companhia e ajuda durante esse período.

De modo especial a **Lidiany e Fábio Luiz Mialhe**, pelo grande apoio na fase final deste trabalho.

A todas as pessoas, que por esquecimento e falha minha, não tenham sido nominadas, cujas participações foram relevantes para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DA LITERATURA	8
2.1 Laser de CO ₂ na Prevenção de Cárie em Esmalte Dental	8
2.2 Ciclagem de pH	19
2.3 Ciclagem Térmica	23
2.4 Microdureza como Método de Quantificação do Conteúdo Mineral	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Delineamento Experimental	33
3.2 Obtenção e Seleção dos Dentes	34
3.3 Preparo Cavitário	35
3.4 Tratamento com Laser	36
3.5 Procedimento Restaurador	37
3.6 Ciclagem Térmica	39
3.7 Ciclagem de Desmineralização e Remineralização	40
3.8 Obtenção dos Corpos de Prova	42
3.9 Análise de Microdureza do Esmalte Seccionado Longitudinalmente	42
3.10 Cálculo da Perda Mineral	44
3.11 Análise Estatística	46

4 RESULTADOS	47
4.1 Porcentagem de Conteúdo Mineral	48
4.2 Porcentagem de Perda de Mineral e Inibição de Cárie	51
5 DISCUSSÃO	57
6 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXO I	78
ANEXO II	79
ANEXO II	80
APÊNDICE	81

RESUMO

A presente pesquisa objetivou investigar *in vitro* o efeito do laser de dióxido de carbono (CO₂) sobre a inibição da desmineralização do esmalte ao redor de restaurações de resina composta. Para isto, 60 blocos de esmalte dental humano obtidos de terceiros molares retidos foram aleatoriamente divididos em seis grupos, de acordo com tratamentos da interface esmalte-restauração: I (controle) – cavidade preparada com ponta diamantada + condicionamento ácido + adesivo + restauração com resina; II(controle) – igual ao grupo I menos o condicionamento ácido e o adesivo; III – igual ao grupo I + 1 Watt; IV – igual ao grupo II + 1 Watt; V – igual ao grupo I + 2 Watts e VI – igual ao grupo II + 2 Watts. Após este procedimento, os blocos de esmalte foram submetidos às ciclagens térmica e de pH para simular um alto desafio térmico e cariogênico. A desmineralização do esmalte ao redor das restaurações de resina composta de acordo com os diferentes tratamentos, foi quantificada pela análise de microdureza. A perda mineral expressa como ΔZ (volume% x μm) e a porcentagem de inibição de cárie dos grupos foi analisada estatisticamente pela análise de variância e teste de Tukey, que inicialmente mostrou que o sistema adesivo não teve nenhum efeito em inibir a perda de mineral próximo à interface dente-restauração. As porcentagens de inibição de cárie para os grupos controle, 1 e 2 Watts a 50 e 100 μm foram respectivamente: 42,79%; 46,12%; 53,84% e

57,12%. Concluindo, o uso do laser de CO₂ (10,6µm) foi efetivo em inibir a cárie dental adjacente a restaurações de resina composta mesmo em situações de alto desafio cariogênico.

ABSTRACT

The present research aimed at investigating the *in vitro* effect of a carbon dioxide (CO₂) laser on the inhibition of enamel demineralization around composite restoration. For this purpose, 60 human enamel blocks obtained from unerupted third molars were randomly divided into six groups, according to the enamel-restoration interface treatments: I (control) - cavity preparation performed with bur + acid conditioning + adhesive + composite restoration; II (control) – same as I minus acid conditioning and adhesive; III – same as group I + 1 Watt; IV – same as group II + 1 Watt; V – same as group I + 2 Watt; and VI – same as group II + 2 Watt. After this procedure, the enamel blocks were submitted to a thermal and pH cycling models to simulate a high thermal and cariogenic challenge. The enamel demineralization around composite resin restorations according to the enamel-restoration interface treatments, was quantified by microhardness analysis. The mineral loss as ΔZ (volume % x μm) and percentage of caries inhibition for the groups were statistically analyzed by ANOVA and Tukey test that initially showed that the adhesive system had no effect in inhibiting mineral loss at the enamel-restoration interface. The percentages of caries inhibition for groups control, 1 Watt and 2 Watt at 50 μm and 100 μm were respectively: 42.79%; 46.12%; 53.84% and 57.12%. In conclusion, the use of a CO₂ laser (10.6 μm) was

effective in inhibiting caries in the enamel adjacent to composite resin restorations even in situations of high cariogenic challenge.

1 INTRODUÇÃO

A Odontologia vem se aperfeiçoando a cada dia, buscando o desenvolvimento de novos materiais e técnicas que possam devolver aos pacientes a estrutura dental perdida, com características próximas às naturais e maior resistência ao desenvolvimento de cárie. Estudos clínicos têm demonstrado que as lesões de cárie secundária apresentam-se como a causa mais comum de substituição de restaurações (ELDERTON & NUTTALL, 1983; FOSTER, 1994; JOKASTAD *et al.*, 1994, MJOR & QUIST, 1997). As trocas de restaurações, quando realizadas de maneira consecutiva, inserem o dente em um ciclo restaurador repetitivo, conduzindo a execução de procedimentos cada vez mais complexos, que resultam numa maior fragilidade da estrutura dental.

A maior longevidade das restaurações adesivas, inicialmente foi alcançada com a preconização do condicionamento ácido do esmalte dental, proposto por BUONOCORE, em 1955. Mais tarde, o condicionamento ácido da dentina ganhou credibilidade e popularidade com o trabalho realizado por NAKABAYASHI *et al.* (1982), que resultou no surgimento dos sistemas adesivos formadores da camada híbrida, cujos princípios perduram até os dias atuais, propiciando maior qualidade na resistência adesiva obtida na dentina. No entanto, esta melhoria na adesividade não traduziu-se na diminuição da reincidência de cárie na interface dente restauração. Assim, novas metodologias tem sido estudadas

buscando o controle da recidiva de cárie nesta região, e desta forma uma maior longevidade desta restauração. A este respeito, o potencial do laser de dióxido de carbono (CO_2), em inibir a progressão da cárie dental quando aplicado sobre a estrutura do esmalte dental tem sido demonstrado (LOBENE *et al.*, 1968; STERN & SOGNAES, 1970; STERN & SOGNAES, 1972; KANTOLA *et al.*, 1973; BORGGRAVEN *et al.*, 1980; NELSON *et al.*, 1986). A energia produzida por este laser apresenta um alto coeficiente de absorção pela estrutura dental promovendo o aquecimento superficial da estrutura, produzindo, desta forma, alterações na estrutura do esmalte como regiões de derretimento superficial, fusão de cristais e esfoliação. Autores como FEATHERSTONE *et al.* (1998) e KANTOROWITZ *et al.* (1998); demonstraram que o maior efeito de inibição de cárie primária no esmalte foi obtido com densidade de energia de 1,0 a 3,0J/cm², e que uma densidade de energia maior não potencializa o efeito do laser. Por outro lado, HSU *et al.* (2001), obtiveram inibição de cárie de até 98% com o mesmo comprimento de onda e uma densidade de energia de apenas 0,3J/cm². No entanto, não houve por parte destes pesquisadores uma preocupação no sentido de avaliar o efeito do laser de CO_2 , na região da interface dente-restauração, quando a mesma fosse submetida a uma condição de alto desafio cariogênico. Desta maneira, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de verificar, se o tratamento da margem do ângulo cavo-superficial do esmalte dental com laser de CO_2 com comprimento de onda de 10,6 μm , e energias de 1 e 2 Watts promove alterações na estrutura dental, capazes de inibir a instalação e progressão de cárie artificial no esmalte adjacente a restaurações de resina composta utilizando ou não sistema adesivo. Para isto, o

esmalte dental foi submetido a um modelo de ciclagem térmica, seguida de um modelo de ciclagem de pH com alto desafio cariogênico e analisado através da técnica de microdureza do esmalte seccionado longitudinalmente.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Com o objetivo de tornar a revisão de literatura mais dinâmica, esta foi dividida em assuntos pertinentes ao estudo, sendo eles:

- 1 - Laser de CO₂ na prevenção de cárie em esmalte dental;
- 2 - Ciclagem de pH;
- 3 – Ciclagem térmica;
- 4 - Microdureza como método de quantificação do conteúdo mineral;

2.1 Laser de CO₂ na prevenção de cárie em esmalte dental.

LOBENE *et al.* (1968) realizaram experimentos com laser de CO₂ contínuo e com comprimento de onda de 10,6 μ m na superfície oclusal de dentes humanos extraídos. Utilizaram energia de 20 watts, com tempos de 0,1 a 5 segundos, e diâmetros do foco de irradiação variando de 1 a 4mm, resultando em densidade de energia de 15 a 12.000 joules/cm². Os autores não encontraram formação de cavidades, nem o fechamento de fissuras, apenas um aspecto branco opaco. Utilizando-se de microscopia de contraste, observaram um grande número de fendas se estendendo da superfície em direção a junção amelo-

dentinária, incineração da substância interprismática e ainda, áreas de esmalte normal. Já na região da junção amelo-dentinária, as fendas vindas do esmalte se estendiam à dentina, que apresentava alterações semelhantes à dentina interglobular, sugerindo incineração dos processos odontoblásticos.

Em 1970, STERN & SOGNAES submeteram superfícies de esmalte humano ao laser de CO₂ pulsado com 13, 25, e 50 joules/cm² e observaram que no esmalte submetido a um alto desafio de pH o grau de desmineralização da subsuperfície diminuía de acordo com o aumento da densidade de energia, e ainda notaram que isto ocorria mesmo com densidades de energia que não apresentavam nenhuma alteração macroscópica.

STERN *et al.* (1972) efetuaram aplicações de laser de CO₂ com comprimento de onda de 10,6µm, na superfície de terceiros molares humanos extraídos. Foram testadas as densidades de energia de 13J/cm² (5 pulsos) e 50J/cm² (24 pulsos), com 50 microssegundos de duração cada pulso. Os autores observaram em microscopia eletrônica de varredura, que com 50J/cm² a superfície do esmalte tornava-se porosa e com fissuras. A intensidade dos efeitos mostrou-se diretamente proporcional à densidade de energia aplicada.

No mesmo ano, STERN & SOGNAES baseados em achados laboratoriais, realizaram a primeira pesquisa *in vivo* visando avaliar o potencial de inibição de cárie do laser de CO₂. Para tanto utilizaram blocos de esmalte dental humano, os quais foram irradiados com laser de CO₂ superpulsado, com

densidade energia de 10 e 15J/Cm², sendo estes fixados em uma janela na superfície vestibular de coroas metálicas fixas, onde permaneceram de três a cinco semanas. O esmalte tratado mostrou uma maior resistência a influência dos fatores cariogênicos da cavidade bucal quando comparado ao esmalte do grupo controle.

As mudanças estruturais produzidas pelo laser de CO₂ foram estudadas por KANTOLA *et al.* (1973). Utilizando-se difração de raios-X de meios, o estudo demonstrou que o laser provocou efeitos que produziram recristalização e crescimento de tamanho nos cristais de hidroxapatita do esmalte dental. No padrão de difração de raios-X de uma amostra de esmalte irradiado com laser de CO₂ foi observado um pico diferente para a estrutura da hidroxapatita. Constantemente, parecia haver uma quantidade pequena de ortofosfato de α cálcio no esmalte irradiado. O ortofosfato de α cálcio é a forma mineral encontrada quando a apatita do esmalte é submetida à alta temperatura.

BORGGREVEN *et al.* (1980) pesquisaram o efeito da aplicação do laser de CO₂ com uma densidade de energia de 10J/cm², pulso de 1 microssegundo que variou em número de 1 a 40 repetições, com intervalos de 3 segundos, sobre a superfície do esmalte dental. A irradiação do esmalte na densidade de energia de 10J/cm², que induziria a fusão parcial da superfície de esmalte, não diminuiu a permeabilidade do esmalte bovino a componentes iônicos e não iônicos de diferentes moléculas, mantendo sua característica de membrana semipermeável. Apenas quando a irradiação foi repetida por 40 vezes, foi diminuída a

permeabilidade. Os autores sugerem que possivelmente ocorreram alterações químicas, na estrutura sub-superficial do esmalte dental, induzida pelo tratamento com laser, igualmente as já demonstradas por KANTOLA *et al.*, em 1973.

NELSON *et al.* (1986) pesquisaram o efeito do laser de CO₂ pulsado com comprimentos de onda variando entre 9,45 e 10,73µm, duração do pulso de 100 a 200 nanosegundos e densidade de energia de 5J/cm², sobre a inibição de cárie artificial *in vitro* em molares humanos. Para tanto, os dentes selecionados foram seccionados obtendo-se dois blocos da porção vestibular de cada dente. Um bloco foi tratado com laser e o outro não (controle). Os mesmos foram individualmente submetidos a uma ciclagem de pH com alto desafio cariogênico. Posteriormente à ciclagem, os blocos foram cortados na porção central e embutidos em resina epóxica, para serem analisados pela técnica de microdureza Knoop. Os resultados mostraram que a energia resultante de 50 Joules causou uma inibição significativa maior na formação da lesão de cárie, desta forma ocorrendo uma maior inibição de cárie quando potências mais altas foram empregadas por pulso. O esmalte tratado com laser utilizando comprimento de onda de 10,73 apresentou 50% menos desmineralização do que o grupo controle. Os autores determinaram que o efeito de inibição de cárie deste laser está diretamente ligado ao comprimento de onda, sendo mais efetivo para o comprimento de onda de 9,45 e 10,73µm que os outros dois estudados (9,73 e 10,45µm).

Mc CORMACK *et al.* em 1995 estudaram o efeito do laser de CO₂ com comprimentos de onda de 9,3; 9,6; 10,3 e 10,6 com pulsos de 50, 100, 200 e 500μs, sobre o esmalte dental humano e bovino, polidos. Utilizando-se de microscopia eletrônica de varredura foi possível observar diversas alterações na estrutura do esmalte como regiões de derretimento superficial, fusão de cristais e esfoliação. Estes autores observaram que estas alterações são dependentes do comprimento de onda. A fusão cristalina ocorreu com densidade de energia tão baixa como 5J/cm² por pulso utilizando comprimentos de onda de 9,3; 9,6 e 10,3μm. Por outro lado, nenhuma fusão cristalina ocorreu com o comprimento de onda de 10,6μm com energia menor ou igual a 20J/cm². Pulsos mais longos diminuíram as condições e extensões da superfície derretida e as fusões cristalinas. O número total de pulsos do laser a que os tecidos foram submetidos não afetou as mudanças na superfície significativamente, contanto que um mínimo de 5 a 10 pulsos fossem usados. Dentre os quatro comprimentos de onda empregados, houve diferenças na interação com a superfície do tecido dental duro, sendo que o coeficiente de absorção de energia do comprimento de onda de 9,6μm é aproximadamente 5 vezes maior que o de 10,6μm, necessitando desta forma uma maior densidade de energia para promover as mesmas alterações na superfície do tecido. Aplicando todas as variáveis descritas em esmalte humano não planificado, foi possível perceber a ocorrência de derretimento, crateras e esfoliação tecidual originada do “stress” térmico.

Segundo FRIED *et al.* (1997), a efetividade dos lasers na prevenção da cárie dental requer conhecimento preciso da quantidade e distribuição da energia laser depositada durante a irradiação. Com os diferentes comprimentos de onda do laser de CO₂ as perdas geradas pela reflexão são consideráveis, variando entre um comprimento de onda e outro, o que gera uma redução da energia de laser absorvida pela superfície de tecidos. Os autores se propuseram a estudar as mudanças na reflectibilidade permanente e transitória no esmalte e dentina humanos e bovinos, com superfície polida e irregular. Os mesmos foram irradiados com esse laser utilizando densidade de energia entre 1-20J/cm². Foi observado um alto índice de reflexão, com os comprimentos de onda de 9,3 e 9,6µm. Estas reflexões perdidas podem ser significativas e podem ser uma preocupação de segurança, uma vez que estas variações são significativas e podem resultar em um aumento ou diminuição na energia laser absorvida pelo tecido. Ambas as mudanças transitórias e permanentes de reflexão durante e após a irradiação devem ser consideradas avaliando a quantidade de energia depositada nos tecidos, particularmente para os comprimentos de onda fortemente absorvidos como 9,3 e 9,6µm, que embora apresentando um alto índice de reflexão apresentam um elevado coeficiente de absorção, permitindo desta forma o uso de uma menor densidade de energia.

Com o objetivo de avaliar *in vitro* o potencial de inibição de cárie do laser de CO₂ com comprimento de onda de 9,6 e 10,6µm, sobre o esmalte dental, KANTOROWITZ *et al.* (1998) estudaram a variação no número de pulsos,

utilizando para tanto 1, 5, 25, ou 100 pulsos. Cada pulso tinha a duração de 100 micro-segundos, com taxa de repetição de 10Hz, 240 milijoules e comprimento de onda de 10,6 μ m, e 100 milijoules para comprimento de onda de 9,6 μ m. Após uma ciclagem de pH, os dentes foram seccionados e foi analisado o conteúdo mineral através da técnica de microdureza. Os resultados mostraram que nos grupos tratados com laser as lesões de cárie eram significativamente menores, quando comparadas com as lesões do grupo controle. O tratamento com este laser inibiu em até 87% o desenvolvimento de cárie *in vitro*, sendo este resultado obtido com 25 pulsos e comprimento de onda de 10,6 μ m. Não foram encontradas diferenças significativas entre 25 e 100 pulsos para os dois comprimentos de onda. Entretanto, o esmalte dental irradiado com comprimento de onda de 10,6 μ m apresentou uma maior resistência a desmineralização. Estas alterações promovidas na estrutura dental são condizentes com a maior resistência a dissolução ácida do mineral, quando exposto a temperaturas superiores a 400°C que seria o início do ponto de derretimento dos minerais da estrutura dental.

FEATHERSTONE *et al.* (1998), utilizando os conhecimentos de que o laser de CO₂ apresenta um potencial de inibição de desmineralização do esmalte e dentina, pesquisaram a influência do comprimento de onda e da energia incidente na estrutura dental sobre a inibição da progressão de cárie no esmalte dental *in vitro*, utilizando um modelo de ciclagem de pH com alto desafio cariogênico. Os dentes coletados foram seccionados na região cervical separando a coroa dental da raiz, sendo a coroa dental coberta por uma camada de esmalte

ácido resistente, deixando apenas duas janelas de 2 por 2mm, uma na porção vestibular e outra na porção lingual. Os comprimentos de onda estudados foram de 9,3; 9,6; 10,3 e 10,6 μm , com duração de pulso de 100 μs e energia incidência de 50, 100, 200 e 250mJ/cm². Os resultados encontrados demonstraram inibição no desenvolvimento de cárie, que variou entre 40 e 85%. O comprimento de onda de 10,6 μm foi o que apresentou o maior índice de inibição de cárie, 85%, comparável com a inibição produzida neste modelo com tratamentos diários com dentifrício fluoretado.

Assim como nesta pesquisa, KONISHI *et al.* em 1999, avaliaram *in vitro* o efeito de remoção e inibição de cárie em esmalte dental humano na interface dente-restauração, utilizando o laser de CO₂, com comprimento de onda de 9,3 μm , nas paredes cavitárias anteriormente a realização das restaurações. Foram realizados preparos cavitários com brocas número 56 montadas em alta rotação, sob refrigeração, na face vestibular de molares extraídos, mantendo todas as margens em esmalte. Seqüencialmente, o dente foi pintado com um esmalte para unhas delimitando a cavidade, a qual foi então exposta a uma solução desmineralizante com pH 5,0 por 7 dias (WHITE, 1987), objetivando a produção de cárie artificial. Utilizando o laser de CO₂ com comprimento de onda de 9,3 μm e densidade de energia de 5J/cm² foi removido o tecido desmineralizado, e posteriormente a cavidade foi restaurada com resina composta, entretanto sem o uso de sistema adesivo. Após restaurados, os dentes foram submetidos a uma ciclagem de pH composta por solução, uma solução desmineralizadora com pH

4,5 por 6 horas e a uma solução remineralizante com pH 7,0 por 18 horas diariamente. Esta ciclagem foi realizada durante 10 dias. Uma vez finalizada a ciclagem de pH, cada restauração foi cortada ao meio, sendo então utilizada uma metade para análise de microdureza e a outra para microscopia de luz polarizada. Os resultados mostram que o tratamento com laser não apenas foi efetivo na remoção do tecido desmineralizado, mas também inibiu a desmineralização das paredes do preparo cavitário em 81% quando comparado com o grupo controle.

Em 1999, ZUERLEIN *et al.*, pesquisando as mudanças físico-químicas do esmalte dental irradiado, observaram que muitos estudos demonstram a capacidade do laser induzir uma decomposição térmica da estrutura mineral do esmalte dental, mostrando desta forma uma redução na taxa de reatividade ácida do mesmo. Desta forma os autores tiveram como objetivo deste trabalho, determinar com precisão a profundidade da modificação do esmalte dental irradiado, bem como a decomposição térmica induzida (perda de carbonato), e a condição ótima predita para irradiação com laser CO₂. Foram irradiados blocos de esmalte dental bovino com laser de CO₂ utilizando comprimentos de onda de 9,6 e 10,6µm. A perda de carbonato foi calculada utilizando os espectros infravermelhos e comparando as simulações numéricas da elevação máxima de temperatura. Tal perda foi iniciada a temperaturas maiores que 400°C, mas só estava concluída após a irradiação repetida da superfície do esmalte com energia acima do limiar de derretimento. Ainda relacionado à perda de carbonato do esmalte dental, comparando os comprimentos de onda de 9,6µm com duração do pulso de 2 e

100 μ s e comprimento de onda de 10,6 μ m com duração do pulso de 2 μ s, foi observada uma maior perda de carbonato quando o esmalte dental foi irradiado com um comprimento de onda de 9,6 μ m e com um pulso de 2 μ s. A profundidade de perda de carbonato foi superior quando a superfície havia sido irradiada com comprimento de onda de 10,6 μ m e 2 μ s por pulso, comparado ao comprimento de onda de 9,6 μ m e pulso de 100 μ s.

TANGE *et al.* (2000), estudaram o efeito do laser de CO₂ pulsado, sobre o esmalte dental humano, decíduo e permanente, utilizando comprimento de onda de 9,6 μ m, sobre a inibição da progressão de cárie artificial, quando o esmalte dental foi submetido a um modelo de alto desafio cariogênico. Para isto após a aplicação do laser os blocos de esmalte foram submetidos a uma ciclagem de pH por 5 dias. Os efeitos foram avaliados pela análise de microdureza que determinou o conteúdo mineral das amostras. Os resultados demonstraram uma variação na inibição de cárie entre 29 e 57%. As amostras irradiadas com densidade de energia de 1,5 J/cm² apresentaram taxa de inibição de cárie no esmalte decíduo de 54% comparado a 49% no esmalte permanente.

Em 2000, HSU *et al.* estudaram os efeitos da irradiação de baixas energias de laser de CO₂ na desmineralização do esmalte dental humano normal e com sua matriz orgânica removido. Foram utilizados vinte e quatro molares humanos, os quais foram cortados ao meio, sendo uma metade do dente removida a matriz orgânica. De cada metade foi selecionada duas áreas

denominadas de janelas. Todas as janelas esquerdas foram tratadas com uma irradiação de laser de baixo-energia, com 2 Watts, pulso com duração de 5ms e 20Hz, 10mJ de energia. Foi considerando que a outra janela serviu como controle sem laser. Depois da formação de lesão de cárie, em uma ciclagem de pH, os dentes foram seccionados para serem avaliados pela técnica de microdureza longitudinal. A perda de minerais dos grupos que não sofreram a remoção da matriz orgânica foi de significativamente maior do que os grupos que foram realizadas, o mesmo ocorreu quando foi comparado o uso do laser ou não. Quando tratado com laser a 2 Watts em esmalte sem a remoção da matriz do esmalte foi de 98%.

NOBRE DOS SANTOS *et al.*, em 2001, testaram a hipótese de que a irradiação do esmalte dental pelo laser de CO₂ pulsado (9,6µm e 5µs) associado ao flúor fosfato acidulado poderia efetivamente inibir a progressão da cárie dental no esmalte dental íntegro e desmineralizado, quando submetidos a um modelo de ciclagem de pH. Para isto 110 blocos dentais foram divididos em 11 grupos, e destes, 80 blocos dentais foram submetidos a uma solução de tampão lactato, 50% de hidroxiapatita, contendo carbopol em pH 5,0, para a produção de lesão artificial de cárie. A seguir, os blocos dentais foram tratados com ou sem laser (1,0J/cm² ou 1,5J/cm²) e ou com flúor (FFA), o qual foi aplicado antes ou após a irradiação. Seqüencialmente os blocos dentais foram submetidos a uma ciclagem de pH por 5 dias. A análise microrradiográfica foi realizada em amostras de esmalte dental, para determinação do conteúdo mineral das mesmas, expresso

como porcentagem de volume mineral por micrômetro. Com base nestes parâmetros, os autores calcularam a porcentagem de inibição de cárie de acordo com as condições experimentais empregadas, que variou de 35 a 76%. Estes autores observaram que independente da densidade de energia empregada, (1,0 ou 1,5J/cm²), o uso combinado do flúor e de laser mostrou-se mais efetivo em reduzir a progressão da lesão de cárie que quando o esmalte dental foi irradiado com o laser de CO₂ após a aplicação do flúor. Com base nestes resultados, os autores concluíram que a combinação do tratamento do esmalte dental com laser de CO₂ e flúor produziu um efeito protetor significativo contra a progressão da cárie dental no esmalte desmineralizado.

2.2 Ciclagem de pH

A carie dental é um processo físico-químico onde ocorrem seguidos episódios de desmineralização e remineralização, proporcionando a ocorrência de trocas iônicas entre substratos dentais e o meio onde se encontram. Baseados neste princípio ten CATE & DUIJSTERS (1982), desenvolveram um método de produção de cárie artificial que utiliza soluções desmineralizadoras e remineralizadoras simulando assim o que ocorre no ambiente bucal na ocasião do desenvolvimento de uma lesão de cárie. Por conseguinte, os autores preconizaram uma metodologia pioneira para estudar as alterações minerais em lesões de cárie artificial, empregando para tanto um modelo dinâmico de ciclagem

de pH. Blocos de esmalte bovino foram expostos por 14 dias a solução desmineralizadora contendo 2,2mM de cálcio, 2,2mM de fosfato e 50mM de tampão acetato, em pH 5,0. As lesões subsuperficiais assim obtidas foram então submetidas alternadamente à solução remineralizadora – contendo 1,5mM de cálcio, 0,9mM de fosfato, 130mM de cloreto de potássio e 20mM de tampão cacodilato, em pH 7,0 com ou sem a presença de 2ppm de flúor. A ciclagem de pH foi conduzida por 10 dias consecutivos. A proporção de desmineralização e remineralização foi avaliada diariamente pela determinação das concentrações de íons cálcio, fosfato e flúor nas soluções nos diferentes grupos experimentais. As lesões foram avaliadas através das análises de microdureza e de microrradiografia. Os resultados mostraram diferenças no mecanismo de remineralização em relação à proporção cálcio/fosfato nas amostras submetidas à ciclagem. Com flúor presente, formaram-se lesões paralisadas que ofereceram um maior grau de dificuldade para uma desmineralização futura.

Em 1986, FEATHERSTONE *et al.* propuseram um modelo de ciclagem dinâmico de desmineralização e remineralização *in vitro*, similar ao modelo preconizado por ten CATE & DUIJSTERS (1982), tendo como um importante diferencial para a pesquisa correlacionar os resultados *in vitro* com um experimento realizado em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos. As composições das soluções foram às mesmas das utilizadas por ten CATE & DUIJSTERS (1982). Os autores observaram que no processo de remineralização é dependente da concentração flúor, desta forma dando suporte ao conceito de

que a presença contínua de flúor em baixas concentrações na saliva, pode apresentar efeito de inibição na desmineralização e melhorar o processo de remineralização.

GERRARD & WINTER (1986) propuseram um modelo de ciclagem pH com maior frequência diária de desafio cariogênico e menor número de dias. A composição das soluções desmineralizadora e remineralizadora foi similar às anteriormente descritas, sendo que para a solução desmineralizadora apresentava pH 5,0 e a solução remineralizadora apresentava pH de 6,5 a 6,7. Os espécimes eram imersos na solução desmineralizadora por 5 minutos, 4 vezes ao dia, durante 2 dias.

Uma nova composição para a solução desmineralizadora foi proposta por FORSS & SEPPÄ em 1990. Esta solução constituiu-se de 0,1 M de ácido láctico tamponado por hidróxido de sódio e pH 5,0. O volume de solução utilizado por espécime foi de 3,0mL. Já para a solução remineralizadora, este volume foi de 1,2mL. O tempo de imersão na solução desmineralizadora foi de 30 minutos por dia, os ciclos foram repetidos durante 9 dias.

Um estudo utilizando ciclagem de pH foi realizado por DAMATO *et al.* (1990) para investigar o efeito de diferentes concentrações de flúor na desmineralização e na remineralização do esmalte. Lesões de cárie artificial foram produzidas com a imersão dos blocos em solução ácida tamponada contendo cálcio e fosfato, por 5 dias. Após este período, os blocos com lesões de cárie eram

diariamente mantidos por 3 horas em solução desmineralizadora, constituída de 2mM de cálcio, 2mM de fosfato, e 50mM de ácido acético com pH 5,0. Após o período de desmineralização os mesmos permaneceram por 5 minutos em soluções de fluoreto de sódio (0 a 2.500ppm) e por 21 horas em saliva artificial (solução remineralizante). As alterações no conteúdo mineral foram avaliadas por microrradiografia, semanalmente, durante 5 semanas. As lesões dos grupos expostos a 0 ou 1ppmF sofreram desmineralização. A remineralização foi significativamente maior com 500ppmF que com 250ppmF de flúor. No entanto, concentrações mais altas de flúor não proporcionaram aumentos adicionais significativos na remineralização.

O modelo de ciclagem de pH proposto por GIBBS *et al.* (1995) apresentou como inovação à utilização de uma terceira solução denominada “tampão neutro”, na qual os espécimes permaneciam por um período de aproximadamente 15 horas diárias e durante os finais de semana. Esta solução era constituída por 20mmol/L de cacodilato, 1,5mmol/L de fosfato em pH 7,2. A condição remineralizadora foi obtida com a utilização de uma solução contendo 1,5mmol/L de cloreto de cálcio, 0,9mmol/L de fosfato, 20mmol/L de cacodilato e 130mmol/L de cloreto de potássio. O pH era 7,3 e houve a adição de diferentes quantidades de flúor em alguns grupos. Os espécimes permaneciam por 30 minutos diários em solução desmineralizadora de composição similar à usada por FEATHERSTONE *et al.* (1986) porém com pH 5,0. Os ciclos foram repetidos por 14 dias consecutivos.

SERRA em 1995, avaliou *in vitro* o efeito cariostático de materiais restauradores, utilizando para tanto uma metodologia onde em blocos de esmalte com preparos cavitários classe V foram restaurados com materiais que liberavam flúor em diversas concentrações e resinas compostas que não liberavam flúor. A área de superfície exposta era conhecida e delimitada, os blocos de esmalte foram então submetidos a uma ciclagem dinâmica de pH e simultaneamente a ciclagem térmica, simulando desta forma um alto desafio cariogênico e térmico. A diferença no desenvolvimento das lesões entre os tratamentos foi quantificada pela técnica de microdureza. Sob as condições estudadas o cimento ionomérico apresentou maior potencial cariostático. Os compósitos avaliados não demonstraram efeito anticariogênico.

A possibilidade de se controlar variáveis justifica a grande quantidade de modelos de ciclagem pH já existentes, propiciando ao pesquisador adaptar modelos para responder as questões elaboradas na pesquisa.

2.3 Ciclagem Térmica

O fato dos materiais restauradores apresentarem coeficientes de expansão térmica lineares diferentes dos encontrados nas estruturas dentais propicia um comportamento clínico diferenciado entre material restaurador e dente. Uma das maneiras de se testar o material, quanto ao grau de

microinfiltração *in vitro*, é simular condições de estresse na interface dente/restauração através da ciclagem térmica.

Em 1969 GUSMAN *et al.*, realizaram uma pesquisa que objetivou avaliar a microinfiltração *in vitro* e a adaptação do material, na qual os dentes restaurados foram submetidos a ciclagem térmica com 500 ciclos. Para a avaliação foi utilizado o método de penetração de radioisótopos. Após a análise dos resultados, os autores constataram que o teste de ciclagem térmica, com 500 ciclos, não influenciou a adaptação marginal dos materiais restauradores.

Talvez uma das definições mais pertinentes de microinfiltração tenha sido descrita por KIDD em 1976, como sendo a passagem clinicamente indetectável de bactérias, fluidos, moléculas ou íons entre as paredes cavitárias e o material restaurador, favorecendo a descoloração marginal, cáries secundárias na interface dente-restauração, hipersensibilidade do dente restaurado e patologias pulpares. Neste trabalho foram descritos e discutidos métodos como corantes, isótopos radioativos, pressão de ar, bactérias, análise por ativação de nêutrons, indução de cárie artificial ou avaliação através de microscopia eletrônica de varredura, para detecção de microinfiltração *in vitro*. Foi relatado pela autora que a ciclagem térmica invariavelmente mostra aumento na microinfiltração. Quando comparados os resultados *in vitro* e *in vivo*, existiram resultados controversos, porém a autora concluiu que os testes de microinfiltração são muito importantes para avaliar materiais restauradores *in vitro*.

restaurações de resina composta, CRIM & GARCIA-GODOY em 1987, realizam uma pesquisa com o seguinte delineamento: Cavidades classe V foram realizadas em pré-molares humanos extraídos. Depois de restaurados, os dentes foram divididos em 4 grupos, sendo que o grupo A foi submetido a 100 ciclos logo após a confecção das restaurações; grupo B submetido a 1500, também logo após a confecção das restaurações; os grupos C e D foram submetidos a 100 e 1500 ciclos respectivamente, porém após serem armazenados por 24 horas depois das restaurações terem sido realizadas. Cada ciclo era composto por imersão a 37°C por 23 segundos; 54°C por 4 segundos; 37°C por 23 segundos e 12°C por 4 segundos. Os resultados indicaram que os espécimes dos dois grupos ciclados imediatamente após terminada a restauração não apresentaram diferenças. O mesmo ocorreu com os dois grupos que permaneceram armazenados. Os autores concluíram que o tempo de armazenamento e de duração da ciclagem térmico não apresenta impacto significativo sobre o padrão da microinfiltração de restaurações de resina composta, e que o tempo de ciclagem térmica curto, logo, apresentam como um efetivo meio para demonstrar a presença de microinfiltração.

HOLTAN *et al.* (1993) pesquisaram a microinfiltração utilizando 5 sistemas adesivos dentinários diferentes. Foram realizados 500 ciclos térmicos compostos por 60 segundos a 5°C e 60 segundos a 55°C. Após a análise estatística dos resultados, os autores concluíram que a avaliação da microinfiltração deveria ser um dos primeiros testes a serem realizados com

adesivos dentinários, pois estaria expondo o material restaurador e o agente de união a um alto desafio térmico.

Em 1993, BARNES *et al.* estudaram a microinfiltração de restaurações de resina composta, comparando dois sistemas adesivos, utilizando técnicas *in vivo* e uma técnica de ciclagem térmica *in vitro*. Na técnica *in vivo* os dentes foram extraídos após seis semanas. As amostras *in vitro* foram termo ciclados por 540 ciclos de 5° e 55°. Os resultados mostraram que não houve diferença entre os dois adesivos testados. Por outro lado, mesmo não pode ser atestado quando compararam as duas técnicas, visto que as restaurações *in vitro* apresentam maior microinfiltração marginal. Estes autores concluíram que as técnicas laboratoriais podem promover maiores níveis de microinfiltração do que os observados clinicamente.

O efeito da ciclagem térmica sobre a microinfiltração foi também avaliado por ROSSOMANDO & WENDT, em 1995. Para tanto, foram empregados diferentes tempos de imerção em soluções fria e quente. Foram realizadas 90 restaurações classe V na face vestibular de terceiros molares humanos extraídos, com materiais que apresentavam comportamentos térmicos diferentes, como a resina composta microparticulada, a resina híbrida e o amálgama de prata. Os dentes foram submetidos a três diferentes tratamentos térmicos. O Grupo A permaneceu armazenado em fucsina básica a 0,5% por 166 horas, tempo correspondente aos ciclos dos demais grupos. Já o grupo B foi submetido a 5000 ciclos com temperatura de 5° e 55°C e 10 segundos de permanência em cada

temperatura. O grupo C utilizou a mesma temperatura do grupo B porém os dentes permaneciam por 60 segundos em cada temperatura. Após a análise dos resultados os autores concluíram que para avaliação da microinfiltração, a necessidade de ciclagem térmica é dependente do modo de condutibilidade térmica do material restaurador. O tempo de imersão deve ser clinicamente pertinente, por exemplo 10 segundos, mas só é importante se o material restaurador apresentar características de condutibilidade térmica.

De acordo com FEATHERSTONE *et al.* (1996), para que ocorra a formação da lesão de cárie na inter-face dente restauração, faz-se necessário que ocorra a formação de uma fenda entre o material restaurador e dente, sendo que este é um processo que leva anos para acontecer *in vivo*. Assim, é desejável que se produza esta alteração na interface dente-restauração *in vitro*, antes de submeter os espécimes ao desafio cariogênico.

Em síntese, a ciclagem térmica busca simular uma condição bucal de alternâncias de temperatura comuns no ambiente bucal. Embora muitas técnicas fujam a realidade clínica, o objetivo único é expor o material restaurador a uma condição de alto desafio térmico, com a possibilidade de controlar possíveis variáveis.

2.1 Microdureza como método de quantificação do conteúdo mineral.

O teste de microdureza é um teste de dureza por penetração no qual são realizadas impressões na superfície teste por meio de pontas penetradoras. Três tipos de pontas penetradoras podem ser empregadas em pesquisas odontológicas: penetradores tipo Vickers; tipo Brinell e tipo Knoop (GUNNAR *et al.*, 1960).

Buscando superar as objeções aos testes de resistência à penetração, KNOOP *et al.* em 1939, introduziram modificações que passaram a validar a técnica. O penetrômetro Knoop consiste de um diamante piramidal montado em um suporte metálico sobre o qual se deslocam cargas de 1 a 500 gramas. As impressões resultantes, pequenas mas muito bem definidas, tem forma de losango, com a diagonal longa sete vezes maior que a curta e trinta vezes maior que a profundidade, permitindo assim o calculo da área demarcada. As medidas são expressas em número de dureza Knoop (KHN).

O primeiro relato da utilização de um aparelho para microdureza com penetrômetro Knoop em Odontologia foi em 1942, por SWEENEY, para determinar a dureza de materiais como ligas de ouro, cimentos, resinas e estrutura dental.

CRAIG & PEYTON em 1958 obtiveram variações consideráveis nos valores de microdureza, embora tenham usado para tanto, cortes transversais e carga de 50 gramas. A média da dureza Knoop foi de 343 (KHN), com variações

entre 272 e 440 (KHN). Diferenças pronunciadas foram encontradas em diferentes cortes de um mesmo dente e de um local para outro em um mesmo corte. Curiosamente, as menores variações ocorreram entre as médias de dureza de diferentes dentes e não entre as médias de vários cortes de um mesmo dente.

NEWBRUN & PIGMAN (1960), em revisão, descreveram e compararam diversos métodos para determinar a dureza de superfície de esmalte e dentina humanos. Nesse trabalho, os autores afirmaram que o uso de penetrador tipo Knoop apresentava vantagens, pois as impressões tinham dimensões definidas, e que as medidas de microdureza pareciam ser um método sensível e confiável para avaliar a progressão de cáries, tanto aquelas de origem natural como as de origem artificial.

PURDELL-LEWIS *et al.* em 1976, avaliaram a precisão e a reprodutibilidade de medidas de microdureza, utilizando esmalte íntegro, desmineralizado e blocos de aço, como principais materiais de teste. Lesões de manchas brancas artificiais foram produzidas com ácido láctico em pré-molares, 1,6% de hidroxietil celulose em pH 4,0, por 96 horas. As medidas foram efetuadas em cortes longitudinais, com penetrômetro Knoop e carga de 15 gramas. O erro do operador foi menor que 5% tanto para medidas em blocos de aço quanto em esmalte, embora as impressões em esmalte tenham mostrado maior dificuldade de leitura que aquelas em blocos de metal. Estes autores encontraram variações de dureza Knoop de até 47(KHN) entre dois dentes, entretanto observaram a

existência de variação na dureza Knoop de 45 (KHN) entre áreas de um mesmo dente.

FEATHERSTONE *et al.* (1983), realizaram uma comparação direta entre dois métodos de análise do conteúdo mineral, em amostras de esmalte dental com lesões de cárie artificial. As análises por microrradiografia quantitativa e por microdureza foram realizadas após as amostras serem imersas em diferentes tipos de tampões, com pH 4,5 ou 5,0, por 3 ou 14 dias. Assim com lesões de cárie produzidas, as amostras foram cortadas no centro da lesão e então utilizada uma metade para cada técnica. Depois de realizada as análises os autores encontraram uma correlação linear entre o percentual de volume mineral, determinada pela microrradiografia, e a raiz quadrada do número de dureza Knoop, obtido por testes de microdureza, no intervalo de 40 a 90% de mineral. Com base nestes resultados estes autores propuseram a seguinte equação: % de volume mineral = $4,3 \text{ KHN}^{1/2} + 11,3$. Desta forma os autores puderam concluir que qualquer uma das técnicas pode ser usada para medir o conteúdo mineral de uma lesão de cárie resultante de desmineralização e provavelmente, remineralização. O parâmetro ΔZ pode ser obtido calculando-se os valores de porcentagem de volume mineral em profundidades crescentes no espécime, obtendo-se curvas do perfil mineral do tecido com desmineralização e do tecido hígido.

Em 1992 ten BOSH & ANGMAR-MANSON, durante um estudo de revisão sobre métodos quantitativos para o estudo do conteúdo mineral em lesões

de cárie, descreveram que a microdureza Knoop é determinada pelo comprimento da marca, em forma de losango, deixada pelo penetrador na amostra e determinado com um microscópio o valor de microdureza (número de dureza Knoop- KHN) é calculado usando-se a fórmula matemática, $KHN = (14230 \times P)/L^2$, onde P é a carga aplicada em g e L é o comprimento da impressão feita pelo diamante, medida na diagonal maior em μm . As determinações de microdureza podem prover evidências indiretas de ganho ou perda mineral. Se o comprimento das impressões aumenta, o tecido perdeu mineral. Se o valor do comprimento diminui em magnitude, o tecido provavelmente ganhou mineral.

Segundo os mesmos autores em 1992, dois tipos de mensuração da microdureza podem ser realizados na análise de alterações minerais:

- Microdureza de superfície, onde o penetrador é posicionado perpendicular à superfície polida do tecido.
- Microdureza do esmalte seccionado longitudinalmente, onde o penetrador é posicionado paralelamente à superfície anatômica do tecido.

A técnica de microdureza tem o seu uso bastante difundido na determinação de alterações minerais ocorridas em substratos dentários proporcionando resultados confiáveis e reprodutíveis.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento Experimental

Na realização deste trabalho foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado num esquema fatorial 3 x 2, com 6 grupos e 10 repetições, de acordo com a seguinte descrição:

Grupo I – 10 blocos dentais, com preparo cavitário realizado com ponta diamantada montada em alta rotação, submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico, aplicação de sistema adesivo e restaurados com resina composta.

Grupo II – 10 blocos dentais, com preparo cavitário realizado com ponta diamantada montada em alta rotação, não submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico, nem a aplicação de sistema adesivo, somente restaurados com resina composta. (controle)

Grupo III – 10 blocos dentais com preparo cavitário realizado com ponta diamantada montada em alta rotação, submetidos ao tratamento superficial do ângulo cavo superficial com laser de CO₂, energia de 1 Watt, condicionamento com ácido fosfórico, aplicação de sistema adesivo e restaurados com resina composta.

Grupo IV-10 blocos dentais com preparo cavitário realizados com ponta diamantada montada em alta rotação, submetidos a tratamento superficial do ângulo cavo-superficial com laser CO₂, operando com energia de 1 Watt, não submetidos ao condicionamento ácido, nem a aplicação de sistema adesivo, somente restaurados com resina composta.

Grupo V – 10 blocos dentais com preparo cavitário realizado com ponta diamantada montada em alta rotação, submetidos a tratamento superficial do ângulo cavo-superficial com laser de CO₂, operando com energia de 2 Watts, condicionamento com ácido fosfórico, aplicação de sistema adesivo e restaurados com resina composta.

Grupo VI – 10 blocos dentais com preparo cavitário realizado com ponta diamantada montada em alta rotação, submetidos a tratamento superficial do ângulo cavo-superficial com laser de CO₂, operando com energia de 2 Watts, não submetidos ao condicionamento ácido, nem a aplicação de sistema adesivo, somente restaurados com resina composta.

3.2 Obtenção e Seleção dos Dentes e Blocos Dentais

Foram utilizados 60 terceiros molares humanos inclusos que apresentassem pelo menos 2/3 da raiz formada, extraídos por razões que não as desta pesquisa, e por se tratar de parte constituinte do corpo humano os mesmos foram obtidos de acordo com as normas do comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba o qual segue as diretrizes da norma

196/96 MS, conforme certificado apresentado em anexo (ANEXO I). Os dentes foram armazenados por 30 dias em solução saturada de Timol a 0,5%, e seqüencialmente avaliados visualmente com auxílio de lupa com aumento de 2,5 vezes, sendo descartados os que apresentaram trincas no esmalte ou qualquer alteração superficial. Para a obtenção de um bloco de esmalte da porção vestibular, foi utilizada uma cortadeira metalográfica ISOMET[®] equipada com discos diamantados. Desta forma, foram realizados dois cortes transversais, um na região cervical do dente próximo a junção amelo-dentinária, e outro corte na porção oclusal a uma distância de 4mm, com o objetivo de se obter a porção central da coroa dental. Em seguida foram feitas duas secções longitudinais da coroa dental, no sentido vestibulo-lingual com 4mm de distância uma da outra, e um último corte no sentido mesio-distal, separando então a porção vestibular da lingual. Desta forma, obteve-se blocos dentais com dimensões da superfície de esmalte conhecidas de 4 X 4mm, portanto uma área de 16mm². Salienta-se que de cada elemento dental foi utilizado apenas o bloco dental correspondente à porção vestibular da coroa dental que foram divididos aleatoriamente, conforme o delineamento experimental já exposto.

3.3 Preparo Cavitário:

Para a realização do preparo cavitário, os blocos dentais foram fixados em lâminas de cera utilidade, com a face vestibular voltada para cima, Todos os preparos foram realizados com pontas diamantadas cilíndricas número 3100 (KG Sorensen) cuja ponta ativa apresenta-se com 1,6mm de diâmetro, sendo trocadas

a cada 10 preparos, visando-se manter o mesmo poder de corte, e evitar um maior aquecimento da estrutura dental assim como a perda da padronização do diâmetro das cavidades, as quais apresentaram uma cavidade de 1,7mm (\pm 1mm). Para a padronização dos preparos cavitários foi utilizado um equipamento desenvolvido pela disciplina de Dentística da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, o qual consiste em uma base onde é posicionado o bloco dental com o auxílio de cera utilidade e uma haste móvel onde é posicionada uma caneta de alta rotação, possibilitando desta forma obter preparos com profundidade conhecidas. Assim, todos os preparos foram realizados com profundidade de 1,5mm. O fato da caneta de alta rotação estar acoplada ao equipamento evita possíveis vibrações que acarretem em cavidades não uniformes. Após a realização de todos os preparos cavitários, estes foram avaliados em uma lupa estereoscópica, com aumento de 2,5 vezes, para observação de trincas geradas pelo preparo e ou alterações na estrutura dental que, quando presentes, determinaram a exclusão do mesmo desta pesquisa, sendo seqüencialmente divididos aleatoriamente em grupos.

3.4 Tratamento com laser

Para a realização do tratamento da margem do ângulo cavo-superficial foi utilizado um laser de CO₂, operando com comprimento de onda de 10,6 μ m (Opus 20 n^o série SA 3101004), potência de 1 Watt nos grupos III e IV assim como de 2 Watts para os grupos V e VI, esta energia condiz com aquela indicada pelo fabricante como sendo de segurança para aplicação clínica em tecidos duros e

utilizada por HSU *et al.* em 2000. O tempo de exposição por pulso foi de 50ms, com intervalos de 500ms determinando taxa de repetição de 2Hz. Em cada ponto foram aplicados 2 pulsos, desta forma foi depositada uma energia de 10mJ nos grupos III e IV e 20mJ grupos V e VI, as quais puderam ser visualizadas clinicamente pela alteração na coloração do esmalte dental o qual passou a apresentar uma coloração esbranquiçada. A ponta ativa do laser foi fixada em uma base de resina acrílica com a finalidade de padronizar a distância em 0,5cm entre a ponta e a estrutura dental, assim determinando a angulação de incidência do raio laser, sendo este de aproximadamente 45°, entre o raio e a superfície irradiada. Desta forma foi irradiada toda a margem da cavidade no sentido horário, necessitando de 20 segundo para este procedimento. Os blocos dentais foram irradiados no Laboratório Experimental de Laser em Odontologia – LELO, da Faculdade de Odontologia da USP – São Paulo através do intercâmbio FOUSP-Opus Dent Israel.

3.5 Procedimento Restaurador

Após a realização dos preparos, em todas as cavidades foi realizada profilaxia com uma pasta de pedra-pomes (SS WHITE) e água destilada e deionizada, usando-se para tanto escovas de Robson montadas em contra ângulo. As cavidades foram então lavadas com spray de água (destilada e deionizada) e ar, e posteriormente secas com jato de ar. O condicionamento ácido foi realizado com ácido fosfórico a uma concentração de 37% (Dentsply-Brasil, Lote 61355 Val. 01/2003) pelo período de 30 segundos, apenas no esmalte dental.

Após este período, os preparos foram lavados pelo tempo de condicionamento com jato de água (destilada e deionizada) e ar, sendo posteriormente secos com jatos de ar indiretos, visando não promover a desidratação da estrutura dental. Dando continuidade ao procedimento, foi aplicado o sistema adesivo Bond1 (Jeneric/Pentron Lote: 34560 Val. 10/2002), em duas camadas, sendo que após a aplicação da primeira camada, esperou-se aproximadamente 30 segundos, aplicado um suave jato de ar, buscando a evaporação do componente volátil. A seguir, o adesivo foi fotopolimerizado por 20 segundos. Após este procedimento, a resina composta FILTEK Z250 (3M Co. Lote: 9BF Val. 10/2003) na cor A3 foi inserida em um único incremento, com o auxílio de uma espátula para resina composta (Thompson nº 6DX), preenchendo-se totalmente a cavidade. Com o auxílio de um pincel com ponta chata nº 2 (Tigre ref. 483) obteve-se uma superfície externa lisa, facilitando posterior polimento. O compósito foi fotopolimerizado por 40 segundos (Gnatus Optilight) com intensidade de luz de aproximadamente $480\text{mW/cm}^2 (\pm 30\text{mW/cm}^2)$ a qual foi mensurada no intervalo entre 10 procedimentos restauradores com auxílio de um radiômetro digital: Cure rite (EFÖS) previamente calibrado.

Concluído o procedimento restaurador, os blocos dentais foram armazenados por 24 horas a 37°C em água destilada e deionizada e posteriormente, foi realizado o polimento com seqüencial de discos de óxido de alumínio (Sof-lex 3M Co.), excluindo o disco mais abrasivo por apresentar a superfície da restauração pequenas irregularidades, montados em mandril,

usando-se contra-ângulo em baixa rotação. O tempo de polimento foi de 10 segundos para cada um dos três discos utilizados, totalizando 30 segundos para cada bloco de esmalte dental restaurado. Depois de polidos, os blocos foram armazenados a 37°C em estufa com umidade relativa por mais sete dias, buscando a cura total da resina composta.

3.6 Ciclagem Térmica

O principal objetivo deste procedimento foi expor o material restaurador a um alto desafio térmico. No processo de ciclagem térmica, todos os grupos foram armazenados em embrulhos de filó, cada um contendo um grupo, os quais foram submetidos a 1000 ciclos, onde cada ciclo consistiu na imersão em água destilada e deionizada por sessenta segundos à temperatura de 05°C ± 1°C, e mais sessenta segundos à temperatura de 55°C ± 1°C, sendo as temperaturas mantidas constantes, em uma máquina de ciclagem térmica MCT2 - AMM-Instrumental do Brasil, conforme a FIG. 1 (PIMENTA, 1999).

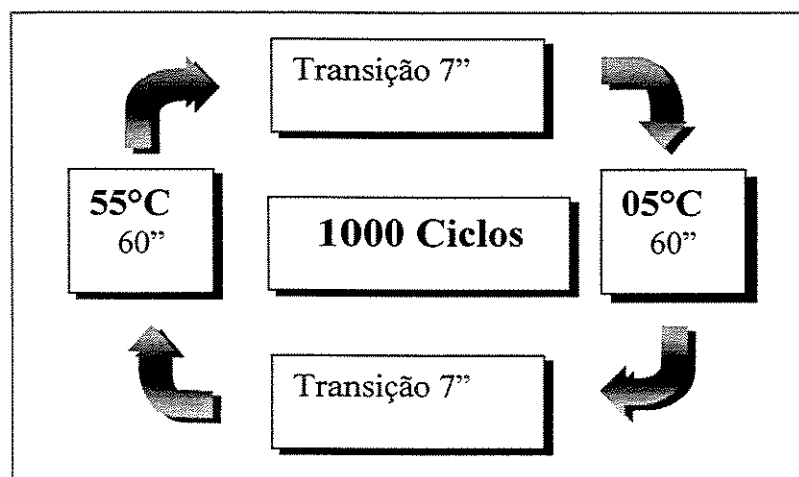


FIGURA 1 – Representação esquemática da ciclagem térmica

3.7 Ciclagem de Desmineralização e Remineralização

Para a realização da ciclagem de pH, foi utilizado o modelo de ciclagem proposto por FEATHERSTONE *et al.* (1986), acrescido de modificações realizadas por TANGE *et al.* (2000) e ARGENTA (2001).

Depois de restaurados e submetidos à ciclagem térmica, em todos os blocos dentais foram aplicadas duas camadas de esmalte de unha, com exceção da superfície correspondente à face vestibular do elemento dental. Desta forma, delimitou-se uma área de 16 mm². Após este procedimento, cada bloco dental foi individualmente fixado a um suporte metálico com cera pegajosa, para então ser submetido à ciclagem de pH de acordo com a seguinte descrição:

1 – Os blocos dentais restaurados permaneceram imersos individualmente por 03 horas (ten CATE & DUIJSTERS, 1982 e ARGENTA, 2001) em 20mL de solução desmineralizadora (1,43mL/mm² de esmalte dental) a 37°C, contendo 2,0 mmol/L de cálcio, 2,0 mmol/L de fosfato e 75 mmol/L de acetato em pH 4,6. Este pH foi estabelecido por meio de um estudo piloto.

2 – Os dentes eram removidos da solução desmineralizadora, e lavados em água destilada e deionizada.

3 – Os blocos dentais restaurados eram então imersos individualmente por aproximadamente 21:00 horas em 10mL da solução mineralizadora

(0,72mL/mm² de esmalte dental) a 37°C, com o objetivo de simular o estágio de remineralização do processo da cárie. Esta solução era supersaturada com fosfato e cálcio (cálcio = 1,5mmol/L; fosfato = 0,9mmol/L), com 150mmol/L de cloreto de potássio tamponado a pH 7,0 com 20mmol/L de tampão cacodilato, aproximando-se do grau de saturação em relação aos minerais da apatita encontrados na saliva e é semelhante àquela usada por ten CATE & DUIJSTERS (1982). Uma representação esquemática pode ser observada na FIG. 2. Este procedimento foi realizado por 5 dias. Foram realizados cinco ciclos e no fim de semana os blocos dentais permaneceram 2 dias na solução remineralizadora (TANGE *et al.*, 2000).

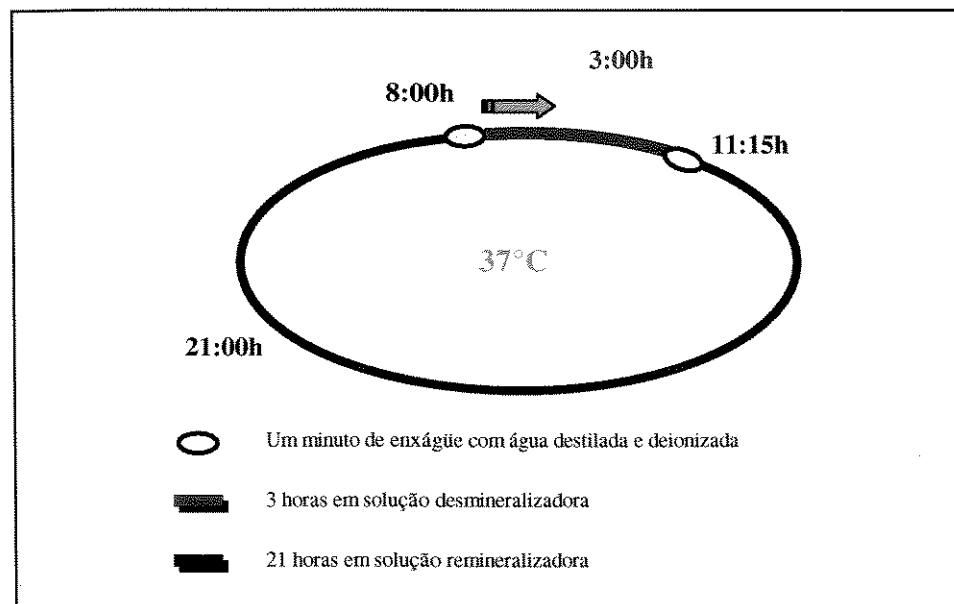


FIGURA. 2 – Representação esquemática da ciclagem de pH.

Ao término da ciclagem de pH, os blocos foram removidos do suporte e da cera e mantidos em ambiente úmido. Posteriormente, foram preparados os corpos de prova para a análise de microdureza.

3.8 Obtenção dos Corpos de Prova

Após concluída a ciclagem de pH, os blocos dentais foram seccionados longitudinalmente no centro da restauração, com o auxílio de discos diamantados de dupla face em uma cortadeira metalográfica, obtendo-se uma amostra da área central da restauração, e embutidos em resina acrílica usando-se uma embutidora (Arotec® PRE 30). Em cada cilindro de resina, foram posicionados 5 blocos de um mesmo grupo, estando os mesmos identificados apenas pelo código atribuído aos mesmos, o que permitiu que o estudo fosse cego.

Para o acabamento dos corpos de prova, usou-se uma politriz elétrica rotativa (Arotec® APL-4), com lixas abrasivas de óxido de alumínio de granulação de 400, 600 e 1200 refrigeradas com água. Seqüencialmente foi realizado o polimento com disco de tecido e pasta diamantada de 1µm. O tempo utilizado foi respectivamente de 10, 15, 20 e 30 minutos.

3.9 Análise de Microdureza do Esmalte Seccionado Longitudinalmente

Para a verificação da presença ou não de desmineralização na parede oclusal das restaurações, foi realizado o ensaio de microdureza no esmalte dental. Os blocos foram visualizados com o auxílio de um monitor. Em cada bloco dental foram realizadas 16 impressões, apenas na margem oclusal de cada restauração,

em pontos distintos, porém com distancias padronizadas para todos as restaurações avaliadas. As análises realizadas foram efetuadas utilizando-se o microdurômetro Future-Tech FM[®] acoplado a um software FM-ARS[®] e penetrador do tipo Knoop, com carga de 25g e duração de aplicação de 5 segundos. As impressões foram realizadas longitudinalmente às faces cortadas, com o longo eixo do diamante do penetrador paralelo à superfície do esmalte. As localizações das mesmas foram a 50 e 100µm de distância da margem oclusal da restauração, e a 10, 20, 40, 60, 80, 100, 140, 220µm de profundidade da margem do ângulo cavo-superficial em direção ao limite amelo-dentinário, como ilustrado no esquema a seguir.

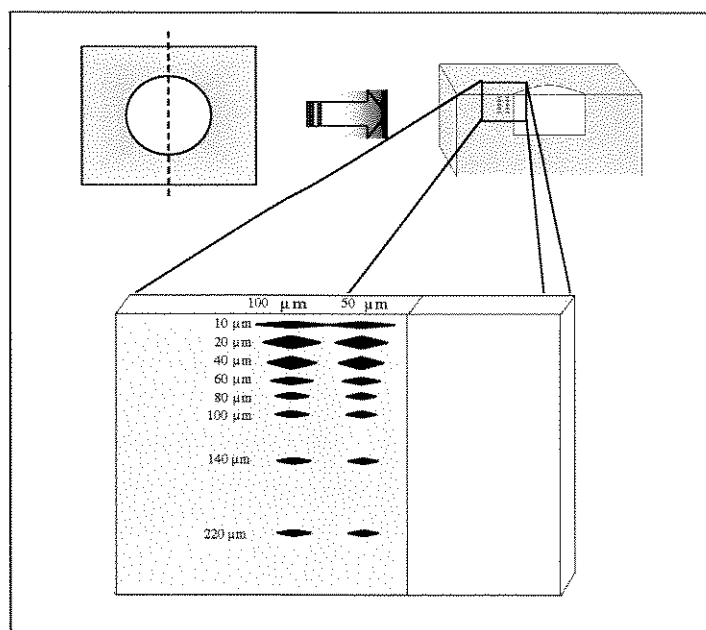


FIGURA 3 – Representação esquemática da análise de microdureza realizada neste estudo

3.10 Cálculo da Perda Mineral

Os resultados de dureza do esmalte seccionado longitudinalmente foram transformados em porcentagem de volume mineral através da fórmula: $4,3 \times (\text{HNK}^{1/2}) + 11,3$ (FEATHERSTONE *et al.*, 1983). Após calcular este valor em todas as profundidades avaliadas foi realizado o cálculo da área integrada sob a curva do perfil de volume mineral em porcentagem de volume mineral por micrômetro (área formada entre os eixos y, x), utilizando-se a regra trapezoidal. Desta forma, de cada bloco dental foi obtida uma média da dureza na região hígida (100, 140 e 220 μm da superfície), a qual foi projetada como sendo a porcentagem de conteúdo mineral normal de cada bloco. O valor de volume mineral em cada bloco tratado foi mensurado nas profundidades de 10, 20, 40, 60, 80, 100 μm a partir da superfície externa. O delta Z de cada bloco foi calculado pela integração da área entre o perfil mineral da lesão e a média da porcentagem de volume mineral (FIG. 4). O delta Z foi obtido através da subtração da área integrada encontrada no bloco tratado, da área integrada da projeção para o esmalte íntegro (OGAARD *et al.*, 1988; ARENDS & ten BOSCH, 1992; SULLIVAN, 1995). Este procedimento permitiu calcular os parâmetros Z e ΔZ , definidos como:

Z (% de volume $\times \mu\text{m}$) = área íntegra do traçado densitométrico até a profundidade de 150 μm para cada grupo, em cada série de experimentos.

ΔZ (% volume mineral X μm) = diferença entre Z para o esmalte integro e Z para o esmalte após sofrer os diversos tratamentos.

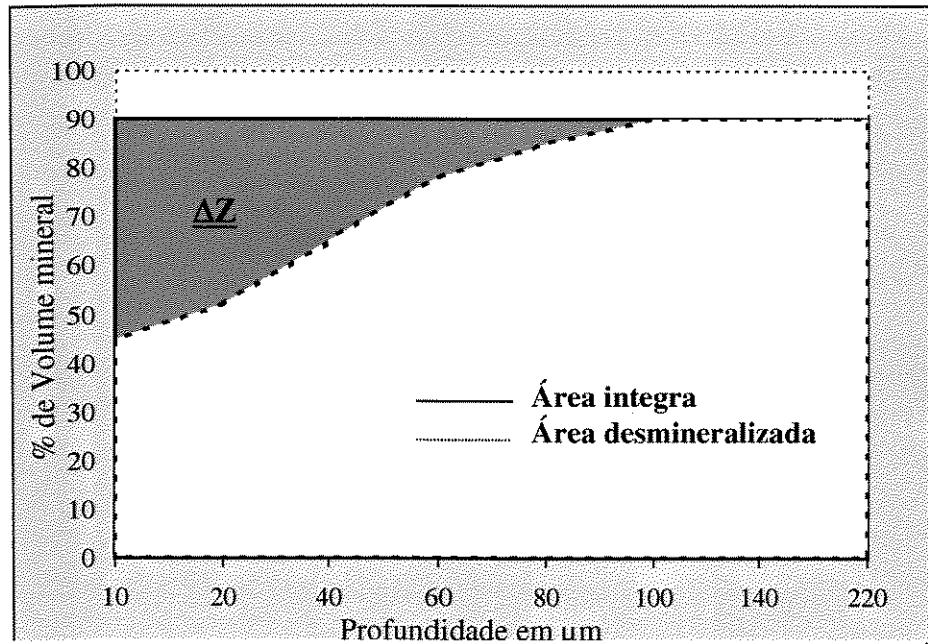


FIGURA 4 – Gráfico explicativo mostrando a área delta Z

Com base neste parâmetro, foi calculada a porcentagem de inibição da perda de mineral em cada grupo, de acordo com a seguinte fórmula (KANTOROWITZ *et al.*, 1998):

$$\text{Porcentagem de inibição} = \frac{\Delta Z (\text{controle}) - \Delta Z (\text{tratamento}) \times 100}{\Delta Z (\text{controle})}$$

3.11 Análise Estatística

Para que fosse realizada a análise de variância do experimento foi necessário um estudo de suposições que objetivou verificar a adequação dos dados aos princípios que regem a análise de dados e desta forma validar a análise. Posteriormente os dados foram analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5%. Não existindo indícios de violações às suposições da análise de variância, foi então realizado o teste Tukey, comparando as médias aos pares, também ao nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

Na presente pesquisa foram avaliadas as variáveis dependentes, porcentagem de volume mineral e porcentagem de perda de mineral (ΔZ). A porcentagem de volume mineral foi avaliada em cinco profundidades e duas posições, segundo o esquema da microdureza já comentado, sendo que cada análise avaliou independentemente cada uma destas medidas. Os resultados mostraram que nesta condição experimental não existiram indícios de que o adesivo interferiu no processo de cárie, visto que o uso do mesmo não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação a sua não utilização. Entretanto, foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os três tratamentos (*Sem laser*, *Laser 1W* e *Laser 2W*) e entre as diferentes distancias estudadas (posição 1 e 2). Desta forma, buscando simplificar a análise estatística, optou-se pelo agrupamento dos dados referentes aos grupos I e II formando simplesmente o grupo sem laser. Da mesma forma, foi realizado o agrupamento dos grupos III e IV, que originou o grupo laser 1 Watt e por fim a junção dos grupos V e VI, originou o grupo denominado laser 2 Watts. Para identificação das diferenças significativas, aplicou-se o teste de comparações múltiplas de Tukey aos grupos de médias.

4.1 Porcentagem de Conteúdo Mineral

As médias e desvios padrão da porcentagem de conteúdo mineral presente no esmalte dental irradiado com 1 e 2 Watts, como também daquele não irradiado (controle) nas posições 1 e 2 (50 e 100 μ m da interface dente-restauração), a cada profundidade estudada, estão ilustradas respectivamente nas TAB. 1 e 2 assim como nos GRAF. 1 e 2.

Os resultados expressos na TAB. 1 e GRAF. 1, indicam que nas profundidades de 10, 20 e 40 μ m, a 50 μ m da interface dente-restauração, o conteúdo mineral presente no esmalte dental irradiado com laser de CO₂ com potência de 1 e 2 Watts foi significativamente maior do que aquele do esmalte não irradiado. No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos tratados com diferentes potências de laser.

TABELA 1 - Médias e desvios padrão (n=20) da porcentagem de volume mineral em função da distância da superfície do esmalte, a 50 μ m da interface dos diferentes grupos.

<i>Grupos</i>	<i>Profundidade (μm)</i>					
	<i>10</i>	<i>20</i>	<i>40</i>	<i>60</i>	<i>80</i>	<i>100</i>
<i>Sem Laser</i>	47,39 (11,02) B	51,40 (13,49) B	72,33 (15,66) B	86,11 (6,61) A	88,81 (6,02) A	89,50(6,44) A
<i>Laser (1Watt)</i>	60,18 (13,74) A	68,33 (16,93) A	84,67 (12,58) A	87,54 (8,54) A	88,47 (8,91) A	88,71 (7,51) A
<i>Laser (2Watt)</i>	58,40 (13,45) A	69,93 (15,92) A	88,48 (13,90) A	90,41 (7,54) A	89,95 (6,63) A	93,14 (3,83) A
Valor-p Anova	0,0058	0,0007	0,0005	0,2226	0,8032	0,6674

Tratamentos seguidos de letras distintas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% .

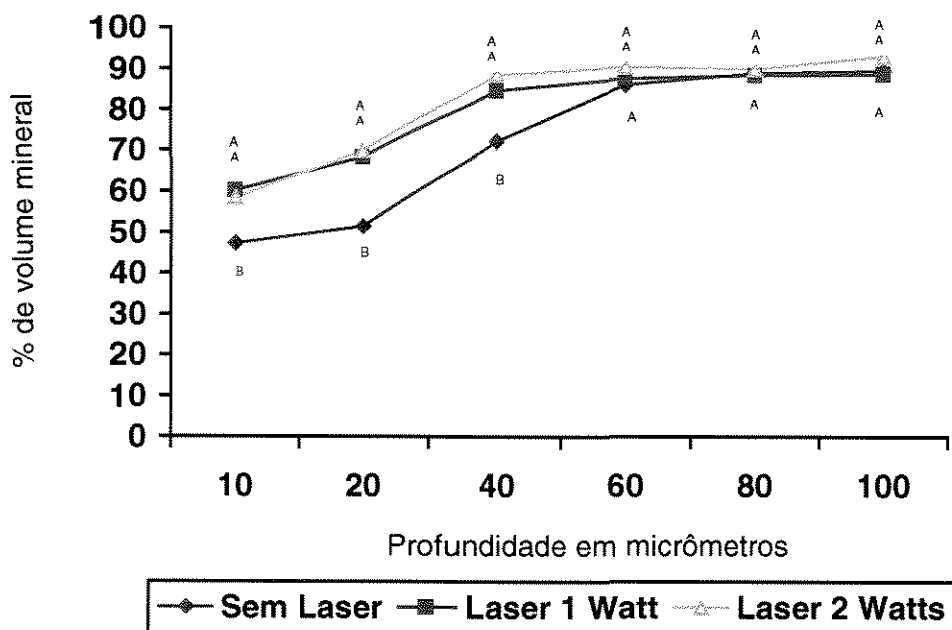


GRÁFICO 1 – Médias de porcentagem de mineral, segundo tratamentos e profundidade. Tratamentos seguidos de letras distintas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Os resultados da porcentagem de volume mineral do esmalte dental na posição 2, a 100µm da interface, estão descritos na TAB. 2. e ilustrados no GRAF. 2. A análise desta tabela evidencia que a 20 e 40µm da superfície o conteúdo mineral do esmalte dental tratado com laser foi significativamente maior do que no esmalte que não recebeu este tratamento. Entretanto, a 10µm da superfície apenas o esmalte dental irradiado com 1 Watt apresentou uma porcentagem de volume mineral estatisticamente maior do que o esmalte não irradiado. Esta tabela

mostra também que a porcentagem de volume mineral do esmalte não diferenciou significativamente quando o mesmo foi irradiado com 1 ou 2 Watts de potência.

TABELA 2 - Médias e desvios padrão da porcentagem de volume mineral em função das distâncias da superfície do esmalte a 100µm da interface e dos diferentes grupos com N de 20 para cada um.

Grupos	Profundidade (µm)					
	10	20	40	60	80	100
<i>Sem Laser</i>	49,63 (11,01) B	53,36 (14,85) B	69,81 (15,37) B	85,80 (7,08) A	89,66 (6,36) A	90,79 (3,61) A
<i>Laser (1Watt)</i>	60,48 (14,42) A	69,86 (15,79) A	87,53 (9,50) A	90,20 (6,12) A	91,33 (6,29) A	90,88 (5,94) A
<i>Laser (2Watt)</i>	59,02(15,21) AB	74,12 (17,18) A	87,24 (12,20) A	90,07 (5,74) A	91,61 (4,08) A	92,33 (3,73) A
Valor-p Anova	0,032	0,0004	0,0001	0,054	0,549	0,496

Tratamentos seguidos de letras distintas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

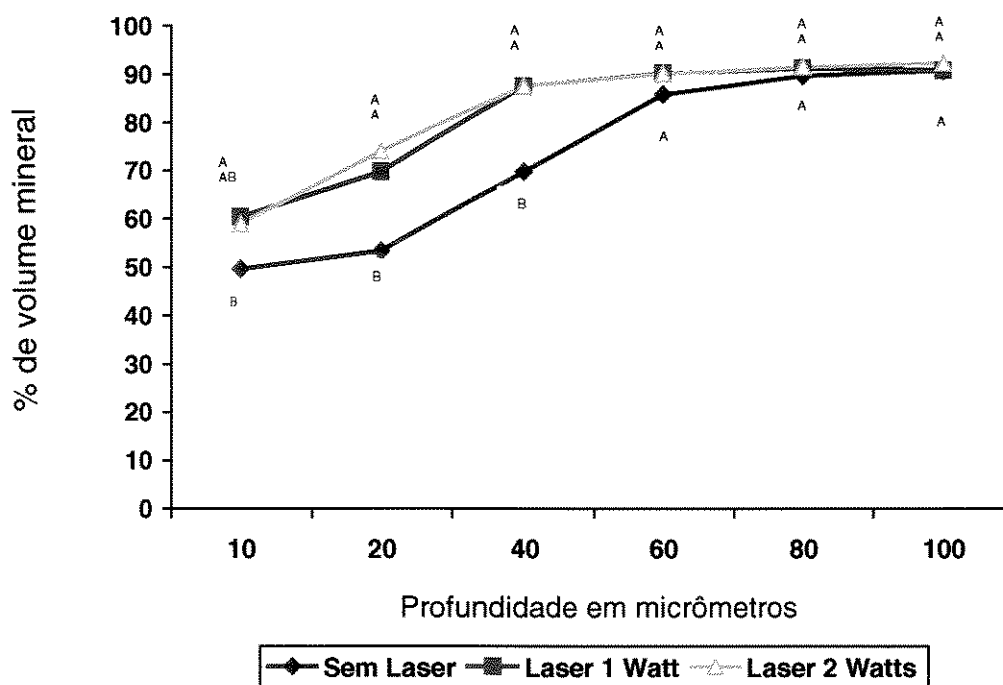


GRAFICO 2 – Médias de porcentagem de mineral, segundo tratamentos e profundidade. Tratamentos seguidos de letras distintas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

4.2 Perda de Mineral (ΔZ) e Porcentagem de Inibição de Cárie

Como no estudo estatístico anterior, este também foi realizado individualmente para os valores das posições 1 (50 μ m da interface) e posição 2 (100 μ m da interface).

Ao estudar-se a variável perda de mineral (ΔZ), não se observaram indícios de violações à suposição de escala da variável de resposta. Em vista dos resultados observados no estudo de transformação de dados, foi conveniente a manutenção da escala original para análise.

Os dados da análise de variância (anexo II) revelam fortes indícios ($p < 0,01$) de que há diferença entre as médias verdadeiras de ΔZ na posição 1 (50 μ m) demonstrando que há efeito significativo do fator “Laser” sobre a variável dependente, mas não há indícios de efeito significativo do fator “Adesivo” ou da interação entre pelo menos dois grupos de tratamentos ($p > 0,05$).

Da mesma forma, os resultados da análise de variância na posição 2 a (100 μ m) apresentada no (anexo II), mostraram-se semelhantes aos da posição 1, a 50 μ m da interface, revelando que há efeito significativo do fator “Laser” sobre a variável dependente, mas não há indícios de efeito significativo do fator “Adesivo” ou da interação entre pelo menos dois grupos de tratamentos ($p > 0,05$). Em vista da inexistência do efeito da interação entre tratamentos aplicou-se o teste de Tukey a fim de se comparar as médias dos tratamentos duas a duas. Os resultados obtidos com o teste de Tukey para comparação de grupos de

tratamentos com laser, nas duas posições, são apresentados na TAB 3. e GRAF.3 e 4.

TABELA - 3 Médias, desvios padrão da perda de mineral (ΔZ) e porcentagem de inibição de cárie na posição 1 ($50\mu\text{m}$) e posição 2 ($100\mu\text{m}$) (n = 20).

Grupos	Distância da interface (μm)			
	$50\mu\text{m}$		$100\mu\text{m}$	
	ΔZ	% de inibição de Cárie	ΔZ	% de inibição de Cárie
Sem Laser	1415,7 (654,3) A	-----	1463,7 (671,8) A	
Laser (1Watt)	809,9 (714,7) B	42,79	675,6 (483,2) B	53,84
Laser (2Watt)	762,8 (594) B	46,12	627,6 (530,6) B	57,12
Valor-p Anova	0,0047		0,0001	

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

A TAB. 3 mostra as médias e desvios padrão do efeito do laser de CO_2 sobre a redução da perda de mineral do esmalte. Os resultados acima indicam que a perda do conteúdo mineral do esmalte dental dos grupos tratados com laser de CO_2 foi significativamente inibida, quando comparada a aquela do grupo controle (sem laser), independente da potência do laser empregada (1 ou 2 Watts). No entanto, a perda de mineral não diferiu entre os grupos tratados com laser.

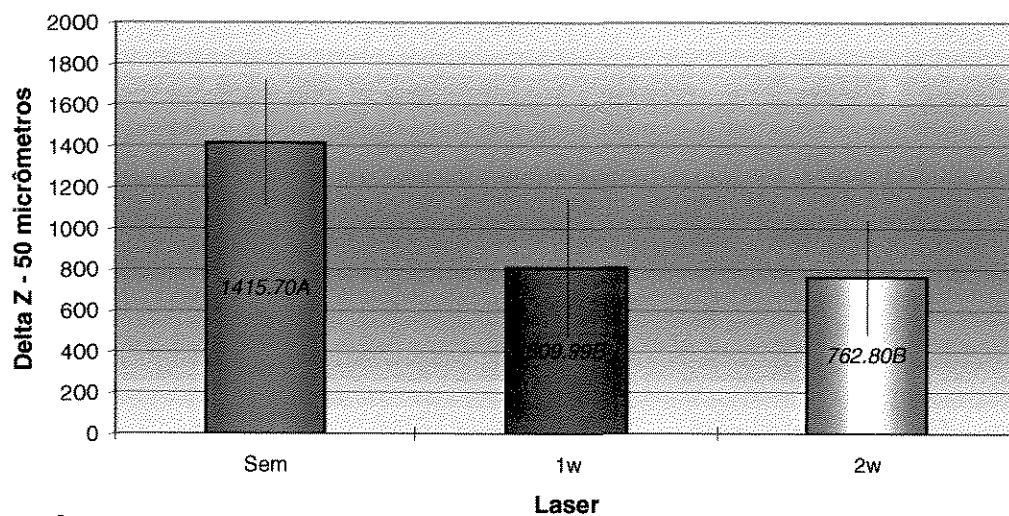


GRÁFICO 3 - Comparação de médias e limites de confiança da média (95%) de ΔZ (50 μm). Barras com letras iguais indicam inexistência de diferença estatística significativa entre os grupos pelo teste de Tukey com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$).

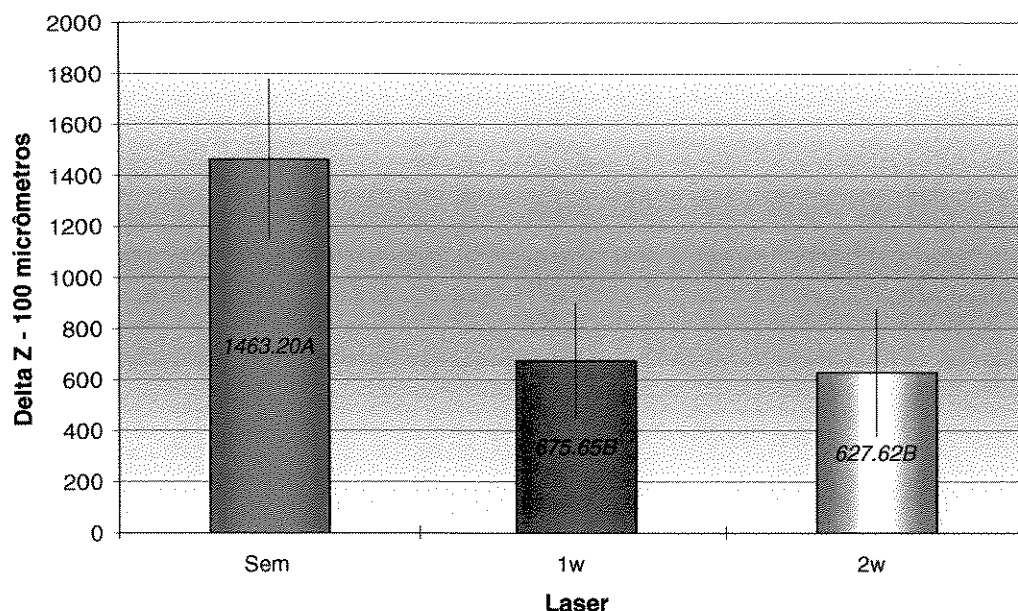


GRÁFICO 4 - Comparação de médias e limites de confiança da média (95%) de ΔZ (100 μm). Barras com letras iguais indicam inexistência de diferença estatística significativa entre os grupos pelo teste de Tukey com nível de significância alfa de 5% ($\alpha=0,05$).

A comparação entre os resultados da perda de conteúdo mineral (ΔZ) do grupo controle (sem laser) com os tratamentos de laser (1 e 2 Watts) foi realizada objetivando constatar a existência ou não da ação do tratamento com laser, sobre o esmalte dental humano, após ciclagem de pH. Desta forma foi possível determinar, através de cálculo matemático (KANTOROWITZ *et al.*, 1998) a porcentagem de inibição de cárie no esmalte dental após aplicação do laser de CO_2 . A porcentagem de inibição variou de 42,79 a 46,12 e de 53,84 a 57,12 na posição 1 (50 μm) e posição 2 (100 μm) respectivamente, conforme TAB. 3 e GRAF. 5, 6, 7 e 8.

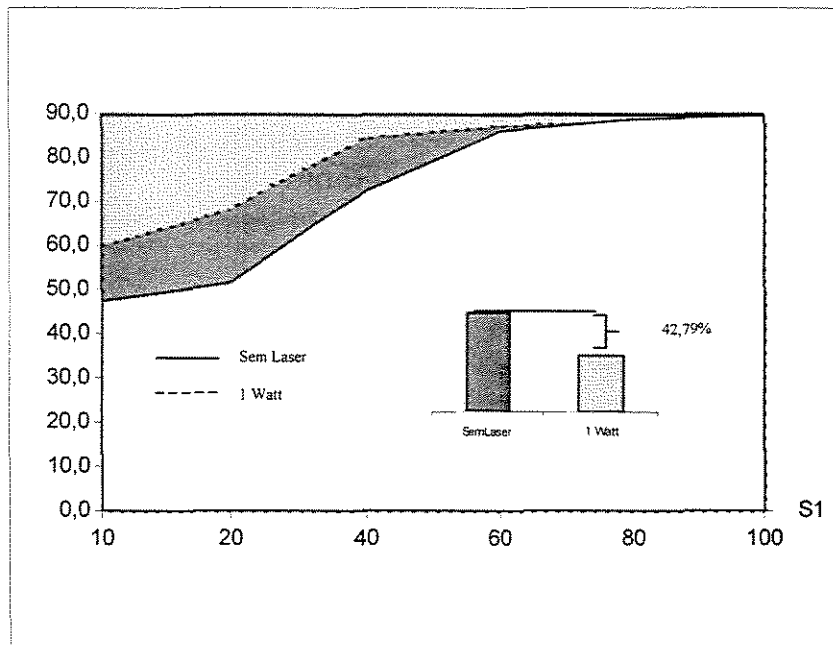


GRÁFICO 5 – Perda de mineral e porcentagem de inibição de cárie do esmalte irradiado com laser com potência de 1 Watt em relação ao grupo controle (sem laser), na posição 1 (50 μm da interface).

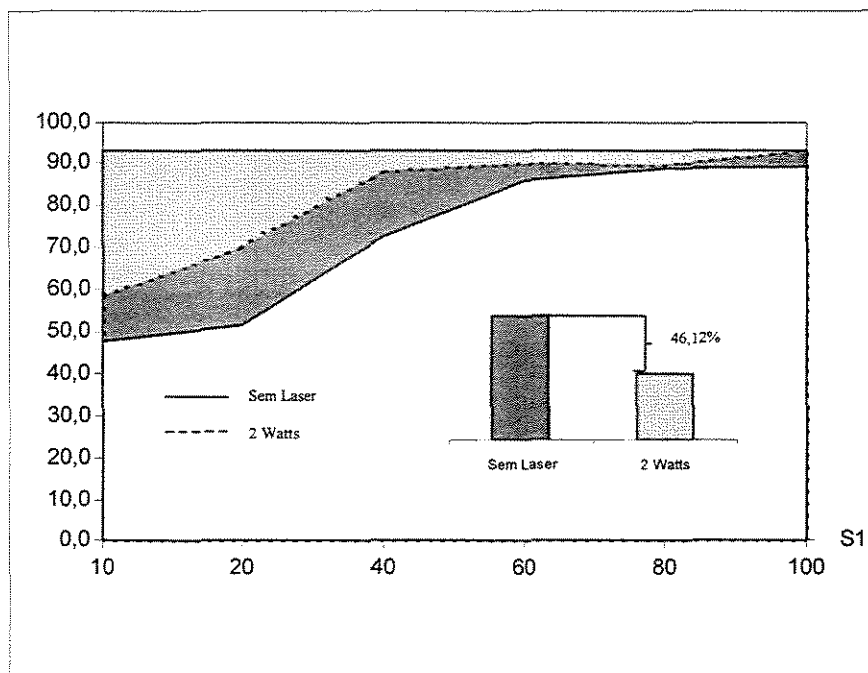


GRÁFICO 6 – Perda de mineral e porcentagem de inibição de cárie do esmalte irradiado com laser com potência de 2 Watts em relação ao grupo controle (sem laser), na posição 1 (50 μm da interface).

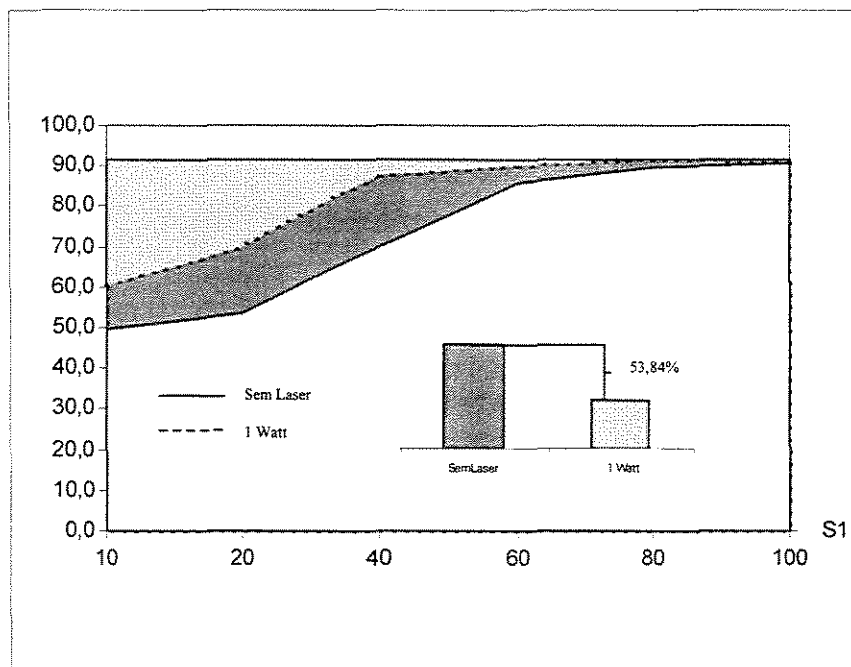


GRÁFICO 7 – Perda de mineral e porcentagem de inibição de cárie do esmalte irradiado com laser com potência de 1 Watt em relação ao grupo controle (sem laser), na posição 2 (100 µm da interface).

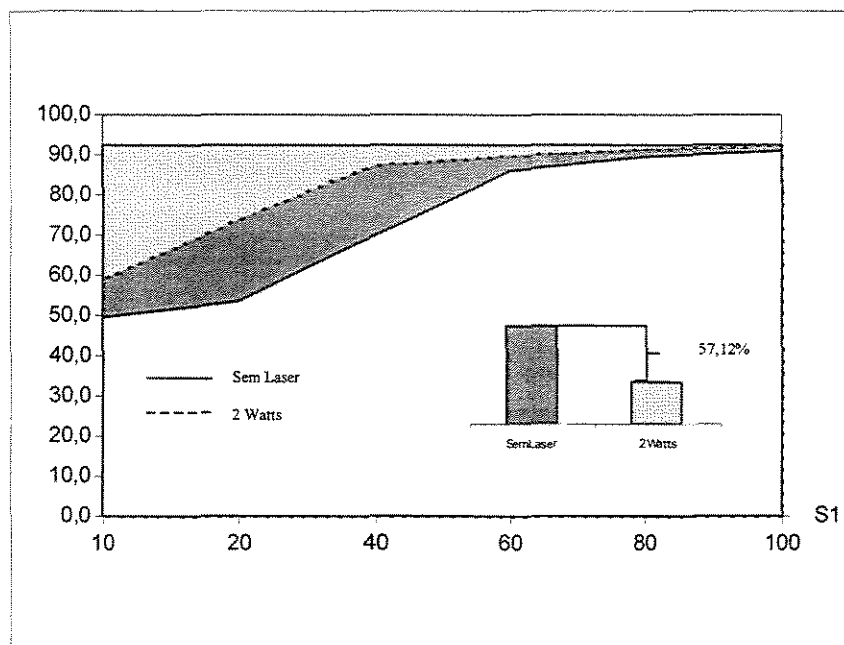


GRÁFICO 8 – Perda de mineral e porcentagem de inibição de cárie do esmalte irradiado com laser com potência de 2 Watts em relação ao grupo controle (sem laser), na posição 2 (100 µm da interface).

5 DISCUSSÃO

O delineamento deste estudo foi idealizado com grupos correspondentes, utilizando ou não o condicionamento ácido e a aplicação de sistema adesivo, para que não ocorresse a interferência deste fator nos resultados de inibição da progressão de cárie na interface dente-restauração, e desta forma, fosse possível avaliar de modo isolado o efeito do laser sobre a estrutura dental (KONISHI *et al.*, 1999). Entretanto, os resultados mostraram que nesta condição experimental não existiram diferenças estatísticas entre os grupos correlatos.

Dentre os métodos empregados para produzir cárie artificial, a ciclagem de pH busca simular as condições de desmineralização e remineralização, semelhantes as que ocorrem na cavidade bucal, (ten CATE & DUIJSTERS 1982, FEATHERSTONE *et al.*, 1986, GERRARD & WINTER 1986, DAMATO *et al.*, 1990). O modelo de ciclagem de desmineralização e remineralização criado por ten CATE & DUIJSTERS (1982), tem sido amplamente empregado com o objetivo de submeter o esmalte dental a um modelo de alto desafio cariogênico e avaliar a efetividade de substâncias em interferir no processo de desmineralização e remineralização. No entanto, somente a partir do início dos anos 90 esta técnica começou a ser amplamente utilizada para avaliar a efetividade dos materiais restauradores e tratamentos adicionais das paredes cavitárias sobre a inibição do

desenvolvimento de cárie na interface dente-restauração (FORSS & SEPPÄ 1990, SERRA & CURY 1992, KONISHI *et al.* 1999).

Neste experimento, foi utilizado o modelo experimental de ciclagem de desmineralização e remineralização preconizado por FEATHERSTONE *et al.*, em 1986, e modificado por TANGE *et al.* (2000) e ARGENTA (2001). Durante o experimento, os blocos dentais eram imersos durante três horas em solução desmineralizadora, simulando uma condição de alto desafio cariogênico, correspondendo ao tempo total diário em que ocorreria acidez bucal abaixo do pH crítico de dissolução do esmalte, provavelmente decorrente da fermentação de carboidratos consumidos em alta frequência pelo indivíduo. Já a imersão dos blocos dentais na solução remineralizadora por aproximadamente 21 horas com concentração muito baixa de flúor (0,03ppm - ANEXO III), representou, *in vitro*, o período de remineralização promovido pela saliva. Além de simular o processo de cárie dental ocorrido em ambiente bucal, este modelo de ciclagem de pH tem ainda como vantagem, permitir alterações nas suas condições, a fim de simular situações favoráveis à desmineralização ou remineralização obtidas com a variação da frequência e amplitude dos ciclos de pH. Com o objetivo de impedir a formação de micro cavidades e permitir a leitura da microdureza sub-superficial do esmalte dental, a solução desmineralizadora teve seu pH elevado para 4,6. Esta alteração de pH foi necessária devido as alterações ocorridas na superfície do esmalte promovidas com o emprego do laser. A diminuição do número de horas de desmineralização, previamente empregada por ten CATE & DUIJSTERS

(1982) e ARGENTA (2001), também teve o mesmo objetivo. Outro fator que contribuiu para a análise em camadas bem próximas à superfície e a mensuração de possíveis alterações que ocorressem em profundidades tão pequenas quanto 10µm, foi a redução no número de ciclos, que foi reduzido para 5. Após este período as amostras foram mantidas por dois dias em solução remineralizadora (TANGE *et al.*, 2000).

Como método utilizado para determinar a variação do conteúdo mineral no esmalte dental humano, utilizou-se ensaios de microdureza. Segundo NEWBRUM & PIGMAN 1960, este é um método sensível e confiável, que proporciona avaliações quantitativas de resistência da estrutura dental, representativas da concentração do conteúdo mineral e da matriz orgânica que compõem o esmalte. A seleção do tipo de teste de dureza é determinada pelas características do material a ser analisado. Em se tratando de um material friável (esmalte dental), a dureza utilizando diamante Knoop é especialmente recomendada (NEWBRUM & PIGMAN 1960). Neste caso, as tensões geradas são distribuídas de forma que não interferem na determinação do seu valor (KNOOP *et al.* em 1939, NEWBRUN & PIGMAN 1960).

Embora muitos trabalhos tenham realizado medidas de dureza da superfície externa da estrutura dental (CALDWELL *et al.*, 1957, NEWBRUM & PIGMAN 1960), este método é impreciso para estudar o desenvolvimento de cárie (SILVERSTONE, 1982), uma vez que estas lesões se formam subsuperficialmente (SILVERSTONE *et al.*, 1988) sobre uma camada superficial bem mineralizada

(SILVERSTONE, 1982, SILVERSTONE *et al.* 1988). Desta forma, é indicado que a microdureza seja realizada em cortes longitudinais, permitindo uma avaliação mais detalhada das lesões de cárie (PURDELL-LEWIS *et al.*,1976); método utilizado neste estudo.

Com relação ao comportamento do material restaurador, o coeficiente de expansão térmica linear reflete a alteração dimensional sofrida pelos materiais restauradores quando da ocorrência de variações térmicas. Os diferentes coeficientes encontrados para estruturas dentais e materiais restauradores resultam em comportamentos clínicos diferentes, que podem acarretar problemas como infiltração marginal, levando a uma diminuição da durabilidade das restaurações (HOLTAN *et al.* 1993). Este é um fato que deve ser considerado ao se testar um material restaurador. A ciclagem térmica se constitui em um teste, *in vitro*, capaz de simular condições de alternância de temperatura comuns no ambiente bucal, propiciando que o material restaurador seja submetido a um elevado estresse térmico, avaliando assim sua capacidade de minimizar a ocorrência de microinfiltração marginal.

Várias são as metodologias preconizadas para a realização de uma ciclagem térmica, as quais podem diferir em relação ao número de ciclos (GUSMAN *et al.*, 1969, CRIM *et al.* em 1985, CRIM & GARCIA-GODOY 1987), corantes utilizados, e ainda, temperatura e duração dos banhos. Segundo CRIM & GARCIA-GODOY (1987), o número de ciclos não é fator primordial, e sim a característica física do material, que pode diferenciar a duração do banho em cada

temperatura (ROSSOMANDO & WENDT 1995). Assim, para a realização deste trabalho empregou-se o modelo de ciclagem térmica utilizado por PIMENTA (1999).

A avaliação do efeito do sistema adesivo sobre a inibição da desmineralização do esmalte dental da margem do ângulo cavo-superficial, evidenciou a inexistência de efeito do mesmo sobre este parâmetro avaliado. Resultados semelhantes foram encontrados por MORAIS em 2000. No entanto, PIMENTA *et al.*, (1998) demonstraram alta efetividade dos sistemas adesivos em reduzir a formação de lesão de cárie artificial. Esta diferença de resultados pode em parte estar relacionada ao fato de ter-se empregado um modelo de ciclagem com pH 4,6 na solução desmineralizadora e cinco dias de ciclagem, enquanto PIMENTA *et al.* (1998) utilizaram o modelo preconizado por FEATHERSTONE *et al.*, em 1986.

Para a realização desta pesquisa empregou-se um laser de CO₂ pulsado, com comprimento de onda de 10.6µm operando com potências de 1 ou 2 Watts e tempo de exposição por pulso de 50ms, com intervalos de 500ms (2Hz). As condições ótimas para a utilização do laser na prevenção e controle da cárie dental, devem ser aquelas que proporcionem o maior efeito inibidor de cárie com a menor deposição de energia nos tecidos dentais subjacentes. De acordo com FEATHERSTONE *et al.*, (1998), o laser de CO₂ com comprimento de onda de 10.6µm apresenta maior índice de inibição de cárie quando comparado ao comprimento de onda de 9,6µm, embora o seu coeficiente de absorção pelo

esmalte dental seja cinco vezes inferior. Tal desvantagem é compensada pela utilização de uma maior quantidade de energia (McCORMACK *et al.*, 1995; FRIED *et al.*, 1997). Os problemas advindos do emprego de altas doses de energia são o aparecimento de trincas que podem ser visualizadas nas imagens de microscopia eletrônica de varredura e uma a possibilidade de aquecimento da estrutura dental. O possível aparecimento destas alterações parece não ter influenciado os resultados encontrados na presente pesquisa, uma vez que a perda de mineral no esmalte dental irradiado com o laser de CO₂ com 1 ou 2 Watts de potência foi significativamente menor ($p < 0,0047$ e $0,0001$ respectivamente) que aquela ocorrida no esmalte não irradiado.

A aplicação do laser de CO₂ pulsado apresenta períodos de relaxamento, inexistentes na aplicação do laser contínuo, o que resulta em uma elevação de temperatura mínima, abaixo da zona de derretimento (5 μ m a 12 μ m), limitando-se a uma profundidade de 10 a 20 μ m. Isto possibilita a utilização dos lasers pulsados em áreas maiores da estrutura dental com menor probabilidade de ocorrência de injúrias teciduais. Assim, uma camada da superfície menor que 10 μ m pode ser aquecida a vários graus centígrados sem causar danos térmicos à região de polpa vital (BOROVSKII *et al.*, 1983; NELSON *et al.*, 1986).

A análise do efeito do laser de CO₂ em inibir a perda de dureza sub-superficial do esmalte a 50 μ m da interface dente-restauração, evidencia que nas distâncias de 10, 20 e 40 μ m da superfície, a porcentagem de volume mineral foi significativamente maior no esmalte tratado com o laser com potências de 1 ou 2

Watts do que naquele que não recebeu o laser. Entretanto, os grupos que receberam o laser não diferiram entre si. No entanto, a partir da distância a distância de 60 μ m, não houve diferença significativa entre os grupos irradiados e o controle (sem laser) o que sugere que até uma determinada profundidade (40 μ m), o laser de CO₂ com 1 ou 2 Watts foi eficaz em inibir a perda de dureza do esmalte. Tendo em vista que o efeito do laser de CO₂ no derretimento da superfície do esmalte irradiado limita-se a 10 μ m, o presente resultado sugere que outros mecanismos (HICKS *et al.* 1993) além do derretimento da superfície do esmalte (NELSON *et al.*, 1986), podem ter contribuído para que ocorresse esta inibição de perda de dureza.

O mecanismo de inibição de cárie apresentado pelo esmalte dental irradiado com laser de CO₂ pode estar relacionado a vários fatores (NELSON *et al.*, 1986). Um fator seria que a composição de esmalte é alterada. O conteúdo orgânico e de água do esmalte é reduzido, como também ocorre a decomposição térmica do carbonato presente na hidroxiapatita do esmalte dental. O esmalte irradiado apresenta-se relativamente livre de carbonato, provavelmente apresentando uma menor solubilidade por se tratar de uma fase de hidroxiapatita pura (KANTOLA *et al.* 1973, BORGGREVEN *et al.* 1980, ZUERLEIN *et al.* 1999). Um segundo mecanismo seria que o esmalte tratado com laser apresentaria uma maior afinidade pelos íons flúor, fosfato e cálcio o que facilitaria a precipitação de fases minerais no esmalte com lesão de cárie e em áreas de hipomineralização. Este ocorrido melhoraria a habilidade de esmalte íntegro em resistir a um desafio

cariogênico, criando cristais de hidroxiapatita fluoretada e outras fases minerais fluoretadas no esmalte irradiado. Um terceiro mecanismo seria que o esmalte tratado com laser apresenta-se com micro-espacos (FIG. 4), os quais durante um período de desmineralização, proporcionariam uma condição em que a solução ácida penetraria no interior do esmalte o que resultaria na liberação de íons flúor, cálcio e fosfato. Os micro-espacos criados pela irradiação atuariam como nichos para os íons liberados, locais onde ocorreria reprecipitação mineral na estrutura do esmalte irradiado. Outro mecanismo importante é o que a superfície do esmalte pode tornar-se mais resistente à dissolução ácida, pois o tratamento com laser resultaria em um rápido derretimento da superfície, fusão e recristalização dos cristais de hidroxiapatita menores tornando-os maiores e desta forma, reduziria a área de superfície total dos cristais. Este mecanismo diminuiria a solubilidade da superfície do esmalte aos ácidos orgânicos, como ilustrado na FIG. 5. Da mesma forma, estes cristais fundidos podem ser compostos de apatita com um baixo conteúdo de carbonato o que aumenta a resistência desta superfície a um desafio cariogênico (HICKS *et al.* 1993).

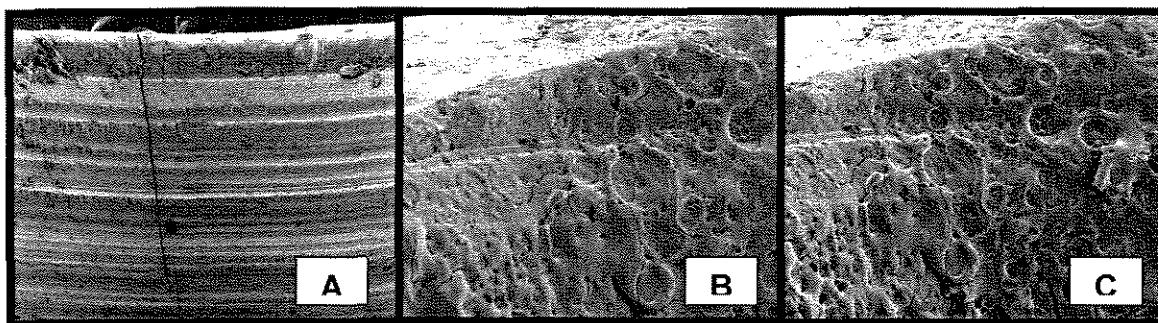


FIGURA 4 – Microscopia eletrônica de varredura (200 X) de preparos cavitários realizados com ponta diamantada e tratados com laser. Letras: A - Sem laser; B - Laser 1 Watt; C – 2 Watts

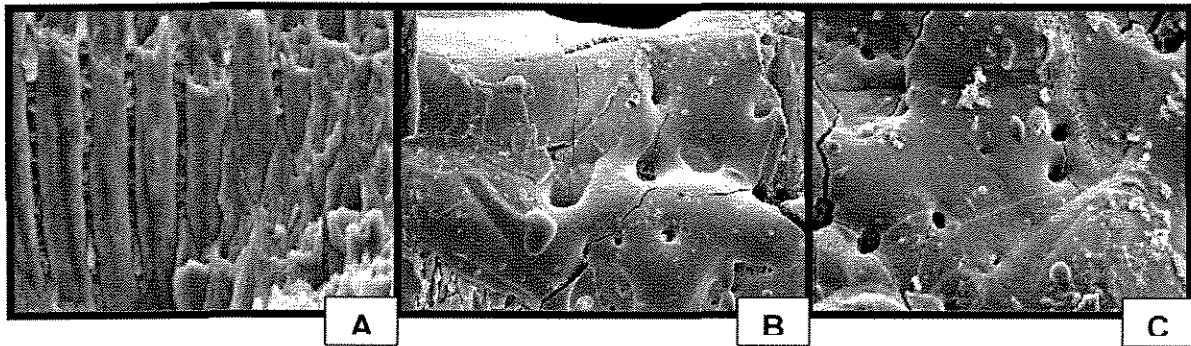


FIGURA 5 – Microscopia eletrônica de varredura em um maior aumento (2000 X) de preparos cavitários realizados com ponta diamantada e tratados com laser. Letras: A - Sem laser; B - Laser 1 Watt; C – 2 Watts

Os resultados de porcentagem de inibição de cárie mostram que a 50 μ m da interface ocorreram inibições de cárie de 42,79 e 46,12 quando do emprego do laser de CO₂ com 1 e 2 Watts respectivamente. Da mesma forma, a 100 μ m da interface dente-restauração porcentagens de inibição de cárie de 53,84 e 57,12% foram obtidas quando o esmalte foi respectivamente tratado com o laser de CO₂ com 1 e 2 Watts.

Esta diferença significativa de inibição de cárie observada nas distâncias de 50 e 100 μ m da interface dente-restauração pode, em parte, estar relacionada com o maior desafio cariogênico que pode ter ocorrido na área da parede da cavidade, possivelmente exposta em decorrência da ciclagem térmica (SERRA & CURY, 1992). Os resultados obtidos nesta pesquisa sugerem que o

tratamento do ângulo cavo-superficial com o laser de CO₂ com 1 e 2 Watts foi capaz de reduzir a formação de cárie artificial no esmalte dental adjacente ao material restaurador, quando submetido a uma condição de alto desafio cariogênico, corroborando os achados de KONISHI *et al.* em 1999. Da mesma forma, KANTOROWITZ *et al.* (1998), obtiveram uma inibição de cárie de 48% quando o esmalte dental íntegro foi irradiado com laser de CO₂, com comprimento de onda de 10,6µm e 1 pulso. Esses autores ainda observaram que o aumento da energia depositada não promoveu maior nível de inibição de cárie, o que concorda com os dados aqui apresentados, os quais mostram que o emprego de laser com potência de 2 Watts não apresentou uma maior inibição de cárie quando comparado com 1 Watt (TAB. 3). Igualmente, empregando condições de irradiação semelhantes às utilizadas neste trabalho, HSU *et al.* (2000), obtiveram porcentagens de redução de perda de mineral de 98%, superior aquela observada nesta pesquisa. Entretanto, estes autores avaliaram o efeito do laser de CO₂ sobre uma superfície de esmalte dental lisa, enquanto na presente pesquisa este efeito foi estudado em áreas do esmalte dental próximas a restaurações de resina composta previamente submetidas a ciclagem térmica, o que pode ser explicado pela existência de lesão de cárie adjacentes as paredes cavitárias, as quais teriam sido causadas pela existência de micro espaços entre dente e restauração em decorrência do desafio térmico. Estes micro espaços aumentariam a área exposta e, conseqüentemente a difusão de íons hidrogênio e a desmineralização, um mecanismo previamente sugerido por SERRA & CURY (1992). Por outro lado, uma menor porcentagem de inibição de cárie foi obtida por NELSON *et al.* (1986),

quando empregou um protótipo de laser de CO₂ com comprimento de onda de 10,6µm. No entanto deve-se salientar que estes autores empregaram densidade de energia de 10 e 50 J/cm² com duração de pulso de 80ms, e de acordo com McCormack *et al.* (1995), o laser com comprimento de onda de 10,6µm, o emprego de densidades de energia como também de pulsos longos vão promover o derretimento, fusão e recristalização dos cristais de hidroxiapatita. Além disto, estes pesquisadores observaram esfoliação na superfície do esmalte em decorrência de rápida expansão de produtos de decomposição gasosa do esmalte dental aquecido, tais como água e dióxido de carbono.

Uma comparação direta dos resultados desta pesquisa com aqueles relatados na literatura mundial torna-se difícil, devido a grande variedade de lasers empregados, diferentes densidades de energia, comprimentos de onda e variações no tempo de aplicação destes lasers. Entretanto, os resultados encontrados neste estudo confirmam aqueles encontrados por um grande número de pesquisadores, STERN & SOGNAES (1970), STERN & SOGNAES (1972), NELSON *et al.* (1986), FEATHERSTONE *et al.* (1998), KONISHI *et al.* (1999), TANGE *et al.* (2000), NOBRE DOS SANTOS *et al.* (2001), os quais evidenciaram o efeito protetor do laser sobre o esmalte dental quando submetido a modelos de alto desafio cariogênico.

A presente pesquisa demonstrou que o tratamento da margem do ângulo cavo-superficial com laser de CO₂ foi capaz de reduzir a perda de mineral do esmalte dental, quando o mesmo foi submetido a um modelo de alto desafio

cariogênico. Sendo assim, estudos adicionais devem ser realizados para verificação da aplicação clínica deste laser com o propósito de prevenir a cárie dental. Estes estudos devem analisar o efeito e a dimensão da alteração térmica decorrentes da sua utilização. Além disso, pesquisas através de estudos *in situ*, devem ser realizadas para que esta tecnologia possa ser aplicada clinicamente, com segurança.

6 CONCLUSÃO

Considerando os resultados, assim como as condições em que este estudo foi realizado, parece válido concluir que:

O uso do laser de CO₂ com comprimento de onda de 10,6µm, nas condições empregadas, foi eficaz na redução do desenvolvimento das lesões de cárie artificial no esmalte dental adjacente a restaurações de resina composta;

A utilização de uma quantidade de energia maior não potencializou o efeito do laser de CO₂ com comprimento de onda de 10,6µm e a utilização do sistema adesivo não mostrou efeito de inibição de cárie dental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ARENDS, J.; ten BOSCH, J.J. Demineralization evaluation techniques. J Dent Res, Washington, v.71, Special Issue, p.924-928, Apr. 1992.
2. ARGENTA, R.M.O. Estudo *in vitro* da efetividade anticárie de uma formulação de dentifício contendo NaF e CaCO₃. Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, 2001.
3. BARNES, D.M. *et al.* Microleakage of class 5 composite resin restorations: a comparison between *in vivo* and *in vitro*. Oper Dent, Seattle, v.18, n.6, p.237-250, Nov. 1993.
4. BORGGREVEN, J.M.P. *et al.* Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental enamel. Arch Oral Biol, Oxford, v.25, n.11/12, p.831-832, 1980.
5. BOROVSII, E.V. *et al.* Thermophysical properties of hard dental tissues and the calculation of dental enamel fusion by laser radiation regimes. Stomatologia (Mosk), Moskva, v.62, n.3, p.29-31, May/June 1983.
6. BUONOCORE, M.G. A Simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res, Washington, v.34, p.849-853, 1955.
7. CALDWELL, R.C. *et al.* Microhardness studies of intact surface enamel. J Dent Res, Washington, v.36, n.5, p.732-738, May 1957.

* De acordo com a NBR 6023, de ago. de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos periódicos em conformidade com o MEDLINE.

8. CRAIG, R.G.; PEYTON, F.A. The microhardness of enamel and dentin. J Dent Res, Washington, v.37, n.4, p.661-668, Aug. 1958.
9. CRIM, G.A.; GARCIA-GODOY, F. Microleakage: the effect of storage and cycling duration. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.57, n.5, p.574-576, May 1987.
10. CRIM, G.A.; MATTINGLY, S.L. Evaluation of two methods for assessing marginal leakage. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.45, n.2, p.160-163, Feb. 1981
11. CRIM, G.A. *et al.* Comparison of four thermocycling techniques. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.53, n.1, p.50-53, Jan. 1985.
12. DAMATO, F.A. *et al.* Effect of fluoride concentration on remineralisation of carious enamel: an *in vitro* pH-cycling study. Caries Res, Basel, v.24, n.2, p.174-180, Mar. 1990.
13. ELDERTON, R.J.; NUTTALL, N.M. Variation among dentists in planning treatment. Br Dent J, London, v.154, n.7, p.201-206, Apr. 1983.
14. FEATHERSTONE, J.B.D. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. Dent Mater, Oxford, v.12, n.3, p.194-197, May 1996.
15. FEATHERSTONE, J.B.D. *et al.* CO₂ laser inhibition of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. J dent Res, Washington, v.77, n.6, p.1397-1403, June 1998.
16. FEATHERSTONE, J.B.D. *et al.* Comparison of artificial caries-like lesion by quantitative microradiographic and microhardness profiles. Caries Res, Basel, v.17, n.5, p.385-391, Sept./Oct. 1983.

17. FEATHERSTONE, J.B.D. *et al.* Enhancement of remineralisation *in vitro* and *in vivo*. In: LEACH, S.A. **Factors relating to demineralization and remineralisation of the teeth.** Oxford : IRL Press, 1986. p.23-34.
18. FORSS, H.; SEPPÄ, L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v.85, n.2 p.178-178, Apr. 1990.
19. FOSTER, L.V. Validity of clinical judgments for the presence of secondary caries associated with defective amalgam restorations. **Br Dent J**, London, v.177, n.3, p.89-93, Aug. 1994.
20. FRIED, D. *et al.* Permanent and transient changes in the reflectance of CO₂ laser-irradiated dental hard tissues at $\lambda = 9.3, 9.6, 10.3$ and $10.6\mu\text{m}$ and at fluences of $1-20\text{J}/\text{cm}^2$. **Lasers Surg Med**, New York, v.20, n.1 p.22-31, Jan. 1997.
21. GERRARD, W.A.; WINTER, P.J. Evaluation of toothpastes by their ability to assist rehardening of enamel *in vitro*. **Caries Res**, Basel, v.20, n.3, p.209-216, 1986.
22. GIBBS, C.D. *et al.* Effect of low levels of fluoride on calcium uptake by demineralized human enamel. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.40, n.9, p.879-881, Sept. 1995.
23. GUNNAR, R. *et al.* Micro-indentation hardness. **J Dent Res**, Washington, v.40, n.6, p.1116-1125, Nov./Dec. 1960.
24. GUSMAN, H.J. *et al.* Marginal leakage of dental restorations subjected to thermal stress. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.21, n.2, p.166-175, Feb. 1969.

25. HICKS, M.J. *et al.* Caries-like lesion initiation and progression around laser-cured sealants. Am J Dent, San Antonio, v.6, n.2, p.176-180, May 1993.
26. HOLTAN, J.R. Microleakage of five dentinal adhesives. Oper Dent, Seattle, v.19, n.5, p.189-193, Sept. 1993.
27. HSU, C.Y.S.; JORDAN, D.N.; DEDERICH, D.N. *et al.* Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization J Dent Res, Washington, v.79, n.9, p.1725-1730, Sept. 2000.
28. JOKASTAD, A.J. *et al.* The age of restorations *in situ*. Acta Odontol Scand, Oslo, v.52, n.4, p.234-242, Aug. 1994.
29. KANTOLA, S. *et al.* Laser induced effects on tooth structure VIII X-ray diffraction study of dental enamel exposed to a CO₂ laser. Acta Odontol Scand, Oslo, v.31, n.6, p.369-379, Sept. 1973.
30. KANTOROWITZ, D.M.D. *et al.* Caries prevention by CO₂ laser treatment: dependency on the number of pulses used. J Am Dent Assoc, v.129, n.5, p.585-591, May 1998.
31. KIDD, E.A.M. Microleakage: a review. J Dent, Oxford, v.4, n.5, p.199-206, Sept. 1976.
32. KNOOP, F. *et al.* A sensitive pyramidal diamon tool for indentation measurements. J Res Nat Bur Stand, Washington v.23, p.39-61. *Apud* NEWBRUM, E., PIGMAN, W. *Op. cit.* Ref. 38.
33. KONISHI, N. *et al.* Artificial caries removal and inhibition of artificial secondary caries by pulsed CO₂ laser irradiation. Am J Dent, San Antonio, v.12, n.5, p.213-216, Oct. 1999.

34. LOBENE, R.R. *et al.* Interaction of carbon dioxide laser radiation with enamel and dentin. **J Dent Res**, Washington, v.47, n.2, p.311-317, Mar./Apr. 1968.
35. McCORMACK, S.M. *et al.* Scanning electron microscope observations of CO₂ laser effects on dental enamel. **J Dent Res**, Washington, v.74, n.10, p.1702-1708, Oct. 1995.
36. MJOR, I.A.; QUIST, V. Marginal failures of amalgam and composite restorations. **J Dent**, Oxford, v.25, n.1, p.25-30, Jan. 1997.
37. MORAIS, P.M.R. **Avaliação in situ da inibição de cárie ao redor de restaurações de amalgama submetidas a diferentes tratamentos das paredes cavitárias.** Piracicaba, 2000. 109p. Tese (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
38. NAKABAYASHI, N. *et al.* The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res**, New York, v.16, p.265-273, 1982.
39. NELSON, D.G.A. *et al.* Effect of pulsed low energy infrared laser irradiation on artificial caries-like lesion formation. **Caries Res**, Basel, v.20, n.4, p.289-299, 1986.
40. NEWBRUM, E.; PIGMAN, W. The hardness on enamel and dentin. **Aust Dent J**, St Leonards, v.5, n.3, p.210-217, Aug. 1960.
41. NOBRE DOS SANTOS, M. *et al.* Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on sound and demineralized enamel. *In*: RECHMANN, P.; FRIED, D.; HENNIG, T. (Ed.) **Laser in dentistry VII.** Bellingham: SPIE, 2001. p.169-174. (Proceedings of SPIE, 4249)

42. OGAARD, B. *et al.* *In vivo* progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. Caries Res, Basel, v.22, n.5, p.302-305, Aug. 1988.
43. PIMENTA, L.A.F; FONTANA, U.F.; CURY, J.A.; *et al.* Inhibition of demineralization *in vitro* around amalgam restorations Quintessence Int, Berlin, v.29, n.05, p.363-367, May 1998.
44. PIMENTA, L.A.F. Avaliação da microinfiltração em restaurações de classe II em compósitos realizadas com duas técnicas diferentes de inserção. Piracicaba, 1999. 94p. Tese (Livre docência) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
45. PURDELL-LEWIS, D.J. *et al.* Hardness tests on sound enamel and artificially demineralized white spot lesion. Caries Res, Basel, v.10, n.3, p.201-215, May./June 1976.
46. ROSSOMANDO, K.J.; WENDT, S.L. Thermocycling and dwell times in microleakage for bonded restorations. Dent Mater, Copenhagen, v.11, n.1, p.45-47, Jan. 1995.
47. SERRA, M.C.; CURY, J.A. The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model Quintessence Int, Berlin, v.23, n.02, p.143-147, Feb. 1992.
48. SERRA, M.C. Efeito *in vitro* de desenvolvimento de cáries em esmalte adjacente a materiais restauradores contendo flúor. Bauru, 1995. 65p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

49. SILVERSTONE, L.M. The effect of fluoride in the remineralisation of enamel caries-like lesion *in vitro*. J Public Health Dent, Richmond v.42, n.1, p.42-53, Jan. 1982.
50. SILVERSTONE, L.M *et al.* Dynamic factors affecting lesions initiation and progression in human dental enamel. II. Surface morphology of sound enamel and caries-like lesions of enamel. Quintessence Int, Berlin, v.19, n.11, p.773-785, Nov. 1988.
51. STERN, R.H.; SOGNAES, R.F. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests *in vivo*. J Am Dent Assoc, Chicago, v.85, n.11, p.1087-1090, Nov. 1972.
52. STERN, R.H.; SOGNAES, R.F. The potencial of various lasers in caries prevention. Ann N Y Acad Sci, New York, v.168, p.642-648, 1970.
53. STERN, R.H. *et al.* Ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. J Dent Res, Washington, v.51, n.2, p.455-460, Mar./ Apr. 1972.
54. SULLIVAN, R.J. *et al.* Intra-oral comparison and evaluation of ability of fluoride dentifrices to promote the remineralisation of caries-like lesion in dentin and enamel. J Clin Dent, Yardley, v.6, n.2, p.135-138, Mar./Apr. 1995.
55. SWEENEY, W.T. The Knoop indentation hardness instrument as a tool in dental research. J Dent Res, Washington, v.21, n.3, p.303, Mar. 1942.
56. TANGE, T. *et al.* TEA-CO₂ laser inhibition of artificial caries-like lesion progression in primary and permanent tooth enamel. *In*: FEATHERSTONE, J.B.D.; RECHMANN, P.; FRIED, D. (Ed.) Laser in dentistry VI. Bellingham: SPIE, 2000. p.306-313. (Proceedings of SPIE, 3910)

57. ten BOSCH, J.J.; ANGMAR-MANSSON, B. A review of quantitative methods for studies of mineral content of intra-oral incipient caries lesions. **J Dent Res**, Washington, v.70, n.1, p.2-14, Jan. 1992.
58. ten CATE, J.M.; DUISJSTERS, P.P.E. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. **Caries Res**, Basel, v.16, n.3, p.201-210, 1982.
59. WHITE, D.J. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. **Caries Res**, Basel, v.21, n.4, p.228-1242, 1987.
60. ZUERLEIN, M.J. *et al.* Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel. **Lasers Surg Med**, New York, v.25, n.3 p.335-347, Aug. 1999.



UNICAMP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Efeito do laser de CO₂ no desenvolvimento de cárie em esmalte adjacente à restaurações de resina composta. - estudo *In vitro*", sob o protocolo nº **90/2000**, do Pesquisador **André Luiz Lux Klein**, sob a responsabilidade da Profa. Dra. **Marinês Nobre dos Santos Uchôa**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – FOP.

Piracicaba, 22 de novembro de 2000

We certify that the research project with title "Effect of CO₂ laser in the development of caries-like lesion adjacent to composite restorations – an in vitro study", protocol nº **90/2000**, by Researcher **André Luiz Lux Klein**, responsibility by Prof. Dr. **Marinês Nobre dos Santos Uchôa**, is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Resarch at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, November 22 2000


Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen
 Secretário - CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. Antonio Bento Alves de Moraes
 Coordenador - CEP/FOP/UNICAMP

ANEXO II

Análise da Variância do delta Z

Quadro de análise de variância. Delta Z 50µm da interface

Causa de Variação	GL	Soma de		Valor F	Pr > F
		Quadrados	Quadrados Médios		
Laser	2	5302676.4751362	2651338.2375681	5.92	0.0047**
Adesivo	1	214797.9570160	214797.9570160	0.48	0.4917
Laser*Adesivo	2	133910.2388232	66955.1194116	0.15	0.8615
Resíduo	54	24194395.4781031	448044.3607056		
Total Corrigido	59	29845780.1490786			
R-Square		C.V.	Root QMR	T_PROF Mean	
0.189353		67.19383	669.36115865	996.16458333	

Quadro de análise de variância. Delta Z 100µm da interface.

Causa de Variação	GL	Soma de		Valor F	Pr > F
		Quadrados	Quadrados Médios		
Laser	2	8804457.6213492	4402228.8106746	13.37	0.0001**
Adesivo	1	2062.0992001	2062.0992001	0.01	0.9372
Laser*Adesivo	2	580022.2199623	290011.1099812	0.88	0.4203
Resíduo	54	17780956.1448745	329276.9656458		
Total Corrigido	59	27167498.0853862			
R-Square		C.V.	Root QMR	T_PROF Mean	
0.345506		62.22688	573.82659894	922.15221667	

ALFREDO
20/09/2001

	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	188	191,5	198,2	192,6
0,125	137,5	138,5	139,7	138,6
0,250	120,7	121,6	122,5	121,6
0,500	103,4	104,1	104,7	104,1
1,00	86,7	87,4	87,6	87,2
Teste	101,9	102,1	104,4	102,8

Curva de Calibração Para Análise de Flúor na Água
Tisab II pH 5,0 1:1

Conc. Padrão µg F / mL	mL do Padrão	mL de Tisab II	Conc. da Mistura µg F / mL	Quantidade µg F	log F	mv	Intercepção	log F calc.	µg F calc.	C.V. %
							1,8439			
0,250	1,0	1,0	0,125	0,250	-0,6021	138,6	Inclinação	-0,6029	0,250	-0,19
0,500	1,0	1,0	0,250	0,500	-0,3010	121,6	-0,0177	-0,3028	0,498	-0,40
1,000	1,0	1,0	0,500	1,000	0,0000	104,1	RQuad	0,0062	1,014	1,43
2,000	1,0	1,0	1,000	2,000	0,3010	87,6	0,9999	0,2974	1,984	-0,82

Amostra	Conc. Teste µg F / mL	mL do Padrão	mL de Tisab II	Conc. da Mistura µg F / mL	µg F Esperado	mv	log F calc.	µg F calc.	C.V. %
Blanck	0,0	1,0	1,0	0,0	0,0	192,6	-1,5562	0,028	
Teste	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0	104,2	0,0044	1,010	
Teste	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0	104,7	-0,0044	0,990	
							Média	1,000	0,00

Amosta	mv	log F calc.	µgF calc.	µg F corrigido	ppm F
RE	190,1	-1,5120	0,03	0,03	0,03
DES	190,1	-1,5112	0,03	0,03	0,03

APÊNDICE

Mecanismo do Laser

A palavra LASER é proveniente do acrônimo *Ligth Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, ou seja, amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. Esta luz, que apresenta características especiais que a diferenciam da luz convencional, é resultado da excitação do átomo ou molécula, que emite um fóton quando retorna ao seu estado fundamental. Este, por sua vez, estimula outro átomo ou molécula que irá emitir outro fóton com a mesma energia. Este processo de emissão estimulada é possível através de um meio ativo, um bombeamento e uma cavidade ressonante.

O meio ativo pode ser composto de um sólido, líquido ou gás, que estará confinado em uma cavidade óptica com 2 espelhos nas extremidades, sendo um de reflexão máxima e outro semitransparente. Um bombeamento que pode ser uma corrente elétrica, a luz de uma lâmpada de *flash* ou um laser, irá estimular o meio ativo.

O meio ativo pode ser:

Sólido: como um bastão de cristal com um elemento dopante para produção de laser, quando excitado por uma lâmpada de *flash*. Exemplos: Nd:YAG, Ho:YAG, Rubi, Er: YAG.

Líquido: um corante orgânico que emite laser quando ativado por outro laser. Exemplo: Corante rodamina.

Gás: gases que podem ser estimulados por uma descarga elétrica ou uma reação química. Exemplos: CO₂, argônico, criptônio, excimer.

Cristais semicondutores: constituídos de camadas de cristais semicondutores sobrepostos, estimulados por corrente elétrica. Exemplo: Laser de diodo.

O ressonador do Laser, que é composto do meio ativo dentro de uma cavidade óptica com um espelho de reflexão total e outro parcial nas extremidades, sofre um bombeamento para que ocorra a emissão estimulada. Os fótons que viajam em movimento de ida e volta incidindo perpendicularmente aos espelhos do ressonador serão amplificados e aqueles que tomaram outras direções, serão perdidos. Parte da energia amplificada atravessa o espelho de reflexão parcial, na forma de uma luz monocromática, coerente e colimada denominada laser.

Propriedades do Laser

O laser é monocromático pois seus fótons possuem o mesmo comprimento de onda (a mesma cor), diferente da luz branca (lâmpadas incandescentes ou fluorescentes) que é formada por vários comprimentos de onda. A coerência é outra característica do laser, cujos fótons viajam na mesma

direção, simultaneamente no tempo e espaço. O feixe de laser é colimado pois não diverge como uma luz convencional.

Sistemas de Entrega de Feixe

Os lasers projetados para áreas médicas possuem mecanismos de condução do feixe, criando condições para acesso à área cirúrgica, como por exemplo a cavidade oral. Estes podem ser braços articulados, fibras ópticas ou guia de onda oco. A ponta ativa de um equipamento de laser que pode ser acoplada ou não por lentes, proporciona um tratamento no modo contato (contato com o tecido alvo) ou não-contato (à distância).

Modo de Irradiação

Existe ainda o modo de irradiação que pode ser contínuo ou pulsado. Na emissão contínua, a irradiação do laser ocorrerá continuamente enquanto o operador estiver acionado o equipamento. Já na emissão pulsada, a irradiação se dará na forma de pulsos de intervalos de tempo curtos (na ordem de microsegundo) e com alto pico de potência.

Potência, Energia e Taxa de Irradiação

Nos equipamentos laser de alta potência pode-se ajustar a potência média, de acordo com o procedimento clínico a ser executado. Sendo um laser de emissão contínua, o valor da potência pico será o mesmo da potência média. Já no caso de uma emissão pulsada, a potência média será a média dos picos de

potência num intervalo de tempo. A taxa de repetição ou quantidade de pulsos por segundo é medida em Hertz (Hz), também pode ser ajustada nos lasers com emissão pulsada.

A medida da potência de um laser é dada em Watt (W) e a energia (potência aplicada por um período de tempo) em Joule (J).:

$$\text{Energia (J)} = \text{Potência (W)} \times \text{Tempo (segundo)}$$

Os equipamentos de laser podem possuir lentes para que diminua o que se conhece como diâmetro de feixe. A finalidade é de aumentar a concentração de energia num ponto focal. Nas áreas médicas, por exemplo, é vantajoso para obtenção de incisões precisas.

Densidade de Energia

O diâmetro do feixe nos fornece um dado importante que é a densidade de energia, definida como a quantidade de energia numa determinada área:

$$\text{Densidade de Energia (J/cm}^2\text{)} = \frac{\text{Energia(J)}}{\text{Área (cm}^2\text{)}}$$

Exemplo do cálculo da densidade de energia: Um dado equipamento possui uma fibra óptica com 1mm de diâmetro, que será utilizada em contato com o tecido alvo. A densidade de energia, ou seja, a quantidade de energia

depositada na área da circunferência delimitada pelo diâmetro da fibra, quando a energia é ajustada a 100mJ, pode ser calculada a partir dos dados abaixo:

$$\text{Energia de irradiação} = 100 \text{ miliJoules} = 0.1 \text{ Joule}$$

$$\text{Diâmetro do feixe} = 1\text{mm} = 0,1 \text{ cm} \rightarrow \text{Raio} = 0,05\text{cm}$$

$$\text{Área} = \pi.r^2 = 3,13 \times (0,05)^2 = 0,00785\text{cm}^2$$

$$\text{Densidade de Energia} = \frac{0,1\text{J}}{0,00785\text{cm}^2} = 12,7\text{J/cm}^2$$