



Avaliação das mudanças químicas promovidas por *laser* de Er,Cr:YSGG para prevenção da erosão dentária

Larissa Sartori*

larissa.sartori@ufabc.edu.br

Orientadora: Patricia Aparecida da Ana*

patricia.ana@ufabc.edu.br

* CECS - Centro de Engenharias, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas

Trabalho submetido à Universidade Federal do ABC

como parte dos requisitos para obtenção

do título de Engenheira Biomédica.

Santo André, abril de 2012

Avaliação das mudanças químicas promovidas por *laser* de Er,Cr:YSGG para prevenção da erosão dentária

Larissa Sartori Nogueira da Silva

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado
à Universidade Federal do ABC, como requisito parcial para
obtenção do título de Engenheira Biomédica.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Patrícia Aparecida de Ana
Universidade Federal do ABC

Prof. Dr. Emery Cleiton Cabral Correia Lins
Universidade Federal do ABC

Prof. Dr. Herculano da Silva Martinho
Universidade Federal do ABC

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Sartori, Larissa

Avaliação das mudanças químicas promovidas por *laser* de Er,Cr:YSGG para prevenção da erosão dentária. Santo André, 2012.

1. Dentina 2. Erosão Dental 3. Espectroscopia de Absorção 4. *Laser* de Er,Cr:YSGG
5. Tratamento e Controle.

Trabalho de Graduação - Universidade Federal do ABC. Centro de Engenharia e Ciências Sociais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patricia Aparecida da Ana

Dedico este trabalho aos meus avós queridos,
Maura e Eurípedes, à minha adorada mãe,
Angélica, e meus amigos do coração,
por todo incentivo, amor e amizade.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à UFABC pela oportunidade e confiança no nosso trabalho.

Agradeço também ao Centro de *Lasers* e Aplicações do IPEN/CNEN-SP e, em especial à Dr^a. Denise Maria Zezell, coordenadora do Laboratório de Biofotônica, pela boa vontade e disponibilização de uso do local e dos equipamentos utilizados para preparação e tratamento das amostras.

Ao Prof. Dr. Herculano da Silva Martinho pelo auxílio e boa vontade em nos ajudar com os problemas que enfrentamos com o espectrômetro FTIR, o qual foi gentilmente disponibilizado pelo Centro Multiusuário/UFABC.

Aos técnicos de Laboratório Juliano Marques Nunes e Jonny Marques pelo auxílio e conversas.

Ao Prof. Dr. Emery Cleiton Cabral Correia Lins, coordenador do curso de Engenharia Biomédica, pelos conselhos e toda ajuda durante o decorrer do curso e na procura por estágio.

Ao meu orientador de estágio, Dr. Renato Araujo Prates, pela compreensão, conselhos e apoio nesta fase da minha vida.

À minha professora, orientadora, conselheira e amiga, Prof^a. Dr^a. Patricia Aparecida da Ana, por ter acreditado em meu potencial e me ajudado a conhecer meu lado profissional que eu mesma desconhecia, por ter me estendido a mão no momento crucial na faculdade e me provado que eu sou capaz. E tudo isso com um jeito amigável e acolhedor. Muito obrigada, Patty!

À minha mãe, minha “quase irmã”, que me ensinou com seu jeitinho meigo a importância do cuidado, do carinho e das pequenas coisas da vida. Para ela, que esteve ao meu lado acreditando, me incentivando e se esforçando o para que meus sonhos fossem concretizados, agradeço imensamente.

Aos meus avós, “meus pais”, pela educação e formação que me deram, pelos valores, amor e carinho de sempre.

Às minhas tias, Luciana e Daniela, pelo incentivo desde a infância ao estudo, companheirismo e lições de base na minha formação. Cada uma contribuiu do seu jeito para que estivesse aqui. Muito obrigada!

Aos meus amigos, pelos momentos de distração e pelos sorrisos, que me fizeram acreditar que tudo daria certo!

À pessoa que me incentivou e me apoiou nos estudos, que com toda a paciência me ensinou muito. Obrigada, Caio, por toda inspiração!

Júlio, meu amigo e companheiro de estudos, nós conseguimos! Obrigada por todos os momentos.

William, Danilo e Alejandro, muito obrigada pelo companheirismo, apoio, paciência e descontração também nos momentos de tensão!

Aos amigos do IPEN, Tânia, Caetano e Endi, pelas risadas e apoio.

Para todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para o andamento desse trabalho vai meu sincero agradecimento!

Sumário

1	Resumo.....	9
2	Introdução	10
3	Objetivos	12
4	Revisão Bibliográfica.....	13
4.1	Anatomia Dental	13
4.1.1	Dentina	15
4.1.2	Esmalte	17
4.2	Erosão Dental	19
4.2.1	Etiologia e Mecanismos	19
4.2.2	Métodos de tratamento e prevenção atuais da erosão dentária.....	22
4.3	Princípios e Construção do <i>Laser</i>	25
4.4	Mecanismos de Funcionamento do Dispositivo de <i>Laser</i>	25
4.4.1	Propriedades da Luz <i>Laser</i>	28
4.4.2	Interação da Luz <i>Laser</i> com a Matéria Biológica	30
4.5	Efeitos da irradiação <i>Laser</i> no Tecido Biológico	36
4.5.1	Efeito Fototérmico	36

4.5.2	Efeito Fotoablativo.....	36
4.5.3	Efeito Fotomecânico-acústico.....	37
4.5.4	Efeito Fotoionizante	37
4.5.5	Efeito Fotofísico-químico	37
4.6	O <i>Laser</i> de Er,Cr:YSGG	40
4.7	Aplicação da irradiação <i>Laser</i> na Odontologia.....	42
4.8	Aplicação do <i>Laser</i> para Tratamento e/ou Prevenção de Erosão Dentária	44
5	Metodologia	47
5.1	Preparação de amostras	47
5.2	Tratamentos	51
5.3	A indução de lesão de erosão (Desafio Ácido)	56
5.4	Análise composicional das lesões	58
6	Resultados e Discussão	62
6.1	Análise das mudanças composicionais promovidas pelos tratamentos propostos	62
6.2	Análise das mudanças composicionais promovidas pelo desafio erosivo.....	70
7	Conclusões.....	86
8	Bibliografia.....	87

1 Resumo

A erosão ácida, uma lesão de prevalência crescente em países industrializados, é causadora de uma perda estrutural significativa da estrutura dental ocasionada pela queda localizada de pH, promovida pela ingestão de alimentos ácidos, por distúrbios do sistema gastrointestinal e/ou psíquicos. Os decorrentes enfraquecimento e desgaste desta estrutura implicam na ocorrência de hipersensibilidade e posterior perda de função do dente e, portanto, torna-se necessária a prevenção do surgimento destas lesões. A prevenção pode ser feita por meio da diminuição da solubilidade do substrato para torná-lo mais resistente à desmineralização, o que é uma alternativa plausível com o uso de *lasers* de alta intensidade, como o de Er,Cr:YSGG ($\lambda = 2,78 \mu\text{m}$). Neste trabalho propõe-se o estudo dos efeitos químicos deste *laser* quando empregado para a prevenção da erosão dentária, em associação ou não à aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA), por meio de irradiações realizadas em amostras de dentina radicular submetidas a desafio erosivo durante o período de 15 dias. As análises composicionais foram realizadas com a utilização da técnica de reflexão total atenuada da espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (ATR-FTIR) em vários momentos distintos, buscando-se monitorar o processo de erosão e a influência dos tratamentos neste processo. A análise dos dados obtidos sugeriu que a associação de *laser* e flúor apresenta maior eficácia na prevenção do desenvolvimento da erosão dentária em relação aos métodos isolados, indiferentemente da sequência de sua aplicação na amostra, embora os métodos isolados também acarretem a diminuição da solubilidade do substrato dentário, em intensidade superior para a aplicação de FFA, seguido pela aplicação do *laser*. Outrossim, foi possível observar que a espectroscopia ATR-FTIR é um importante método que permite avaliar e monitorar a progressão das lesões de erosão em dentina.

Palavras-chave: dentina, erosão dental, espectroscopia FTIR, *laser* de Er,Cr:YSGG, flúor

2 Introdução

O consumo de bebidas e outros produtos de baixo pH tem aumentado consideravelmente nos últimos anos em função de novos hábitos alimentares assumidos pela população em geral, devido a adoção do estilo de vida urbano. Dados publicados no IBGE, no ano de 2004, revelam que o consumo de refrigerante aumentou cerca de 490% no Brasil de 1995 a 2003. [1] Tal fato acarreta diversos danos à saúde dos indivíduos usuários de tais produtos, incluindo à saúde bucal.

O baixo pH e o tipo de ácido, bem como outros compostos químicos presentes nas bebidas, são fatores que contribuem para a dissolução dos tecidos duros dentários, facilitando o desenvolvimento da erosão ácida dentária[2]. Esta trata-se de uma patologia causadora de perda significativa da estrutura dental, ocasionada pela queda de pH localizada, a qual é promovida pela ingestão de alimentos ácidos tais como refrigerantes e bebidas isotônicas, sendo também frequentemente associada a distúrbios do sistema gastrointestinal (presença de refluxo gastro-esofágico) [2], distúrbios psíquicos (bulimia) [1][2] e por contato periódicos com ácidos, como no caso de alguns trabalhadores industriais [1]. Tratam-se de lesões que tiveram prevalência amplamente aumentada principalmente nos países industrializados, ocasionando perda de parte da estrutura dental, o que resulta no enfraquecimento do dente, na ocorrência de hipersensibilidade e na consequente perda de função do dente [1].

Entretanto, devido à dificuldade apresentada pelos pacientes em controlar os possíveis fatores etiológicos causadores da patologia, como a ingestão de alimentos de baixo pH ou o contato com ácidos endógenos (por fatores diversos), estratégias foram desenvolvidas para prevenir, tratar ou deter a erosão dental [1]. O tratamento das lesões provocadas pela erosão ácida é quase sempre restaurador, o que implica em desgaste da estrutura remanescente. Contudo, o sucesso da terapia depende também da mudança de hábitos do paciente. Desta forma, torna-se mais importante prevenir o surgimento destas lesões.

A necessidade de prevenção do surgimento das lesões leva à procura por alternativas que diminuam a solubilidade do substrato dentário, tal como o uso de *lasers* de alta intensidade. Estudos prévios têm demonstrado que *lasers* emissores no infravermelho, quando bem absorvidos por água e hidroxiapatita, podem mudar a composição química e cristalina do esmalte dental, tornando-o mais resistente à desmineralização [2][3]. Dentre estes *lasers*, destacam-se *laser os lasers* de Er:YAG ($\lambda = 2,94 \mu\text{m}$), Er,Cr:YSGG ($\lambda = 2,78 \mu\text{m}$) e o *laser* de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$). Entretanto, até o momento, não há trabalhos na literatura que utilizem o *laser* Er,Cr:YSGG, o qual apresenta possível potencial, para prevenção do surgimento de lesões de erosão, bem como evidenciem seus efeitos na composição química da dentina radicular quando submetida ao desafio erosivo, o que motivou a realização do presente estudo.

O presente estudo objetiva, portanto, avaliar os efeitos químicos e morfológicos do *laser* de Er,Cr:YSGG em associação ou não à aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA), quando empregado para a prevenção do surgimento de lesões de erosão dentária. Ainda assim, pretende-se verificar a possibilidade de uso da espectroscopia FTIR para monitoramento deste processo.

3 Objetivos

O presente projeto visa o estudo dos efeitos microestruturais da aplicação do *laser* de Er,Cr:YSGG e FFA em dentina radicular quando empregado para a prevenção do surgimento de lesões de erosão na estrutura dental ocasionada pela queda de pH localizada, promovida pela ingestão de bebidas ácidas. Secundariamente, pretende-se avaliar o potencial uso da espectroscopia FTIR para monitoramento do processo erosivo em dentina radicular.

4 Revisão Bibliográfica

4.1 Anatomia Dental

Os dentes podem ser definidos como órgãos compostos por tecido duro de estrutura calcária, constituídos macroscopicamente por duas partes distintas: coroa e raiz. Tais órgãos, inseridos nos alvéolos dos maxilares e da mandíbula, são responsáveis pelo auxílio no processo de digestão alimentar por meio da desintegração mecânica dos produtos consumidos, realizada conforme movimentação destes no percurso intra-bucal entre as arcadas dentárias superior e inferior do indivíduo. As arcadas dentárias são individualmente compostas, na maturação, por 16 dentes, totalizando, por arcada, 4 incisivos, 2 caninos, 4 pré-molares e 6 molares, órgãos estes que apresentam funções distintas no processo (Figura 1). Seu papel mostra-se também relevante na estética facial, bem como na dicção das palavras e, logo, na comunicação do indivíduo.

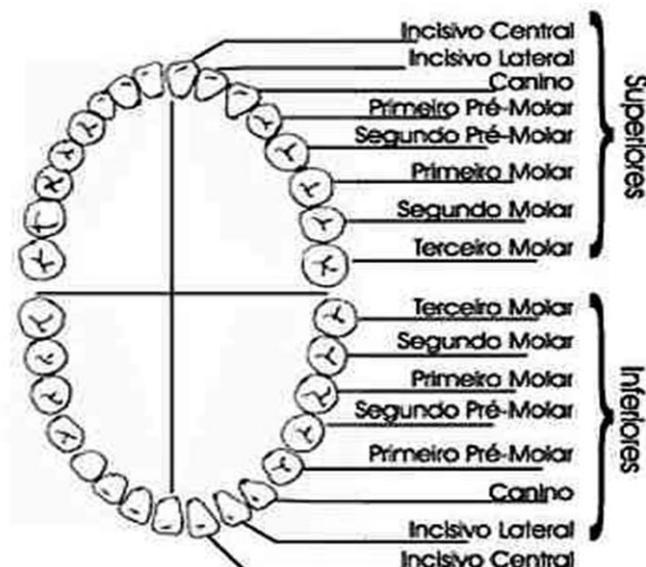


Figura 1: Arcada Dentária Completa de Indivíduo Adulto.
 Fonte: <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/corpo-humano-sistema-digestivo/dentes-2.php> acessado em 01 de abril de 2012

Como citado anteriormente, o dente se subdivide anatomicamente em duas grandes partes, sendo a primeira denominada coroa, a qual apresenta-se externamente à gengiva. A raiz, por sua vez é a extensão interna à mesma, inserida no osso alveolar e que promove suporte ao dente. No interior de ambas estruturas encontra-se o tecido pulpar, responsável pela nutrição e sensibilidade do dente.[2]

Além de tais estruturas, citam-se também unidades funcionais auxiliares para que os dentes exerçam sua função, por meio de sua fixação na maxila ou mandíbula. [2] O periodonto, unidade funcional referida, a qual é constituído pela gengiva, cimento, membrana periodôntica e o osso alveolar possui este importante papel no processo de mastigação. Em questões funcionais, o osso alveolar, o qual compreende cavidades alveolares onde encontram-se inseridos os dentes, tem por finalidade a fixação destes órgãos através do auxílio ordenado das fibras colágenas pertencente ao tecido conjuntivo fibroso pertencente à membrana periodôntica. Logo, esta última assume igualmente o auxílio na função da fixação dental. [2]

Abaixo se encontra disposta uma ilustração englobando os conceitos expostos nos parágrafos anteriores.

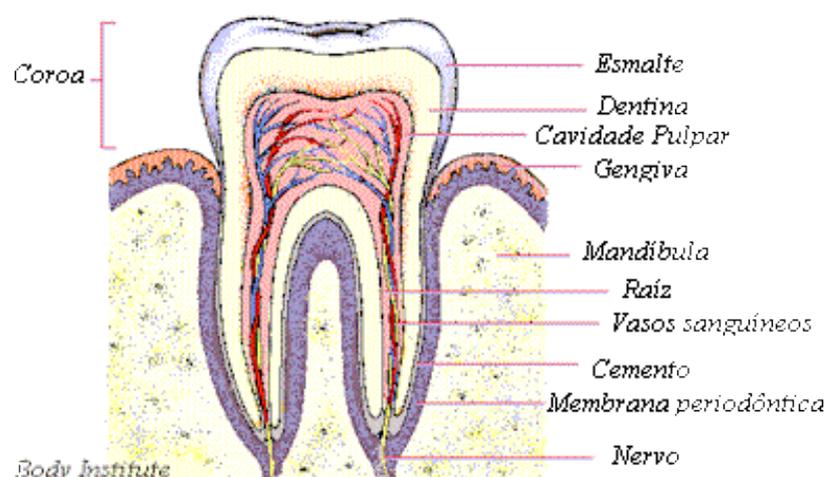


Figura 2: Esquemática da anatomia Dental e suas Unidades Funcionais Auxiliares Anexas
Fonte: http://www.webciencia.com/11_06dente.htm acessado em 01 de abril de 2012

Descrevendo em detalhes a constituição coronal e radicular e, devido ao enfoque pretendido no presente projeto, abaixo são discutidas com minúcia a composição e aparência dos substratos esmalte e dentina.

Para dar início a tal descrição, a qual será desenvolvida nos tópicos 3.1.1 e 3.1.2, cabe ressaltar que a forma obtida pelo dente torna-se própria devido ao formato da dentina que o mesmo contém e, conseqüentemente pelo esmalte que recobre a mesma. [2]

4.1.1 Dentina

A dentina, um tecido amarelado parcialmente mineralizado e heterogêneo em questões de composição e morfologia, o qual apresenta-se constituído de aproximadamente 70% de conteúdo inorgânico, 18% de conteúdo orgânico e 12% de água. [4]

Entretanto, tal composição característica não se mostra fixa, podendo variar de acordo com o posicionamento dentário, com a região do dente considerada bem como com a profundidade da mesma. Tal fato baseia-se em estudo realizado por PASHLEY em 1981 [5], o qual verifica a variação da densidade dos túbulos dentários conforme a profundidade, além de observar uma fração superior de água na dentina profunda quando comparado com a dentina superficial. Devido a tal fato encontram-se na literatura valores variados de sua composição, os quais muitas vezes se diferenciam dos valores apresentados no início do tópico 3.1.1, como ocorre no artigo apresentado por MELLO, em 2009 [6], o qual descreve a dentina como um substrato constituído por aproximadamente 45% de conteúdo inorgânico (composto basicamente de cristais de apatita), 30% de matriz orgânica e 25% de água. [4]

Microscopicamente, observa-se a presença de múltiplos túbulos dentinários com composição diferenciada de colágeno, os quais encontram-se dispostos paralelamente a uma pequena distância desde a câmara pulpar até a junção amelodentinária. Estes, compostos basicamente por cristalitos de apatita de baixo teor em cálcio e alto em carbonato, são definidos como estruturas cilíndricas de diâmetro variante entre 2,5 μm na proximidade da polpa e 1,2 μm na porção média da dentina, apresentando, ainda, medidas inferiores próximas da junção amelodentinária: 900 nm. Logo, pode-se observar a característica interna do substrato como um cone invertido [4]. Cabe ressaltar ainda que a dentina também pode sofrer variações de densidade tubular de acordo com a profundidade, sendo que na porção mais externa do tecido dentinário encontram-se em média 15.000 a 20.000 túbulos dentinários por mm^2 enquanto na região interna, próximo à polpa, encontram-se entre 70.000 e 90.000 túbulos dentinários por mm^2 . [4] Tais diferenças diametrais e de densidade influem na permeabilidade dentinária, a qual é proporcional ao diâmetro e ao número de túbulos dentinários, aumentando à medida que os mesmos convergem para a polpa, já que nesta região o diâmetro tubular é maior e é através destes que há difusão de fluido pela dentina. [4]

Interiormente a estes túbulos encontram-se extensões celulares dos odontoblastos, os quais localizam-se em áreas diversas, incluindo polpa, fluido pulpar e fibras nervosas; extensões pelas quais é possibilitada, portanto, a comunicação com a polpa dentária. Entretanto, os odontoblastos apresentam também a importante função inicial no processo de remineralização através da produção da matriz colágena, sobre a qual ocorre a deposição de cristais de apatita. [4]

Embora vista como um todo até o exato instante, a dentina difere-se de acordo com a localização da mesma, apresentando variações composicionais. Para tal identificação utiliza-se das nomenclaturas peritubular e intertubular [7]. A dentina peritubular refere-se à porção que envolve os túbulos dentinários. Esta estrutura

altamente mineralizada apresenta em sua composição o cristal de apatita como principal componente, o qual compreende 95% do total. A dentina intertubular, por sua vez, se refere ao tecido que se localiza entre os túbulos. Seu conteúdo inorgânico é inferior quando comparado ao da dentina peritubular, compreendendo cerca de 5 vezes menos mineralização [4].

A estrutura biológica da dentina é responsável pela propriedade elástica da mesma e pela conseqüente prevenção de fraturas no esmalte subjacente. Isto ocorre pois a dentina é menos quebradiça do que o esmalte e provê um apoio complacente para o mesmo. Entretanto, caso ocorra desgaste severo do esmalte, a dentina pode tornar-se parte da superfície de oclusão dos dentes e se desgastará rapidamente devido sua menor dureza e, portanto, menor resistência mecânica.

4.1.2 Esmalte

O esmalte trata-se de um tecido translúcido e mineralizado constituído por aproximadamente 97% de substância inorgânica, 1% de conteúdo orgânico e 2% de água, em peso.[4] Estes valores retratam o esmalte como o tecido mais mineralizado do corpo humano, além do mesmo enquadrar-se como a estrutura mais superficial e visível do órgão dental. [8]

Em questões anatômicas, pode-se observar variação de cor que, embora translúcida como descrito anteriormente, pode ser encontrada entre o amarelo claro e o branco acinzentado. Tal variação ocorre devido à coloração da dentina subjacente às regiões mais finas de esmalte e às propriedades físicas do próprio substrato, as quais se assemelham às propriedades da água (densidade de $2,95\text{g/cm}^3$ e índice de refração de 1,64). [4][8] Como pressuposto da frase anterior, a espessura do esmalte apresenta-se igualmente variável, com valor máximo de aproximadamente 2,5 mm nas superfícies oclusais de molares. [4]

Analisando o substrato microscopicamente observa-se que seu conteúdo mineral constitui-se principalmente de hidroxiapatita em forma de cristais firmemente unidos e organizados em formatos de bastões ou barras de esmalte, os quais são separados paralelamente por finos espaços inter cristalinos que permitem a passagem de pequenas moléculas. A união de tais cristais organizados denomina-se prismas, unidades estruturais das quais serão discutidas posteriormente.[4][8]

Entretanto, embora a hidroxiapatita constituidora prismática seja semelhante à hidroxiapatita mineral, os cristais encontrados no esmalte constituem uma forma impura de tal apatita biológica, pois na mesma pode ocorrer a inclusão de minerais diversos, entre eles o carbonato, sódio, flúor, magnésio, potássio, cobre, cloro, ferro, manganês, enxofre, chumbo e outros íons, sendo a hidroapatita carbonata predominante em relação as demais. [8] Estes cristais de hidroxiapatita, nos quais observam-se como componentes principais o fosfato (52%), o cálcio (37%) e a hidroxila (3%), apresentam em média 50 nm de diâmetro e 100 nm de comprimento. Estes, reunidos organizadamente em aproximadamente 1000 cristais, originam os prismas de esmalte, como já comentado. [4][8]

Os prismas de esmalte, estrutura a qual se subdivide em regiões interprismática e prismática, apresentam (em corte transversal) um aspecto circular, com aparência de um buraco de fechadura, característica esta que rendeu a denominação clássica para tal estrutura. [4] Os cristais constituidores do prisma, entretanto não se comportam uniformemente como descrito acima, onde cita-se que os mesmos alinham-se seus eixos paralelamente ao eixo dos prisma. Tal fato não ocorre na região periférica (interprismática), onde os cristais promovem espaços inter cristalinos maiores devido a formação de saliências e depressões, oriundas da inclinação formada na junção de tais cristais. [4] Portanto, o que difere as regiões prismáticas é justamente a orientação e disposição dos cristais de hidroxiapatita.

Outra camada também relevante de citação trata-se da aprismática, a qual é igualmente constituída por cristais de hidroxiapatita, embora não apresente sua constituição com a formação de prismas. Tal ocorrência, verificada no recobrimento da coroa dentária decídua e em regiões de fósulas, fissuras e cervicais dos dentes permanentes, ocorre devido a fato de que alguns cristais não atingem a superfície do esmalte dentário. [8]

Outro ponto a ser abordado no atual tópico trata-se da análise funcional do esmalte. Neste aspecto, pode-se citar a propriedade de dureza do substrato, a qual permite suportar as forças mecânicas oriundas da mastigação. Entretanto, tal propriedade acarreta igualmente a fragilidade do material, o que explica a necessidade de auxílio de outro material, mais resiliente, para que o esmalte mantenha sua integridade. Este material trata-se da própria dentina, a qual se justaposta como uma camada subjacente. [4]

No decorrer da vida do indivíduo, é natural que a estrutura desgaste-se em regiões, por exemplo, de atrição mastigatória ou de contato dente-dente (em caso de arcadas desalinhadas), bem como apresente mudanças de cor, redução da permeabilidade e modificações na camada superficial. Como o esmalte dental é um tecido incapaz de regeneração torna-se necessária a realização de pesquisas que previna ou auxilie no tratamento de tal desgaste.

4.2 Erosão Dental

4.2.1 Etiologia e Mecanismos

A erosão dental é uma patologia crônica definida como a perda dentária de tecido duro causada por processos químicos não envolvendo bactérias. [1][9] Esse

ataque químico não bacteriano, o qual pode ser iniciado por uma variedade de fatores extrínsecos e intrínsecos, promove, através da interação com ácidos ou agentes quelantes, perda da superfície e amolecimento da sub-superfície do esmalte por meio da remoção dos minerais destas estruturas. [1][9][10][11]

Em dentina, este processo foi descrito em estudo realizado por MEURMAN e FRANK, em 1991 [12], o qual demonstra a capacidade dos ácidos erosivos expor as estruturas internas da dentina. Posteriormente, em estudo realizado por WIEGAND e ATTIN, em 2003 [13], e por estudo feito por LUSSI, JAEGGI e ZERO, em 2004 [14], descreveu-se tal processo erosivo na dentina como uma subdivisão em dois estágios distintos. No primeiro ocorre a parcial desmineralização da superfície envolvida, ocasionando na interface entre dentina inter e peritubular um esvaziamento dos túbulos dentários e o alargamento dos mesmos, explicando, portanto, a sensibilidade maior a estímulos externos. Nesta fase, portanto, ocorre lesões nas superfícies oclusais e na superfície lisa, sendo observáveis apenas mudanças sutis no contorno do dente. [1][15] No segundo estágio, ocorre a destruição coronal, ou seja, o mineral mais externo à dentina é totalmente perdido e, logo, a estrutura mostra-se mais porosa. [1][15] Tal fato ocasiona a diminuição da resistência ao desgaste, tornando a superfície mais susceptível aos efeitos da atrição e da abrasão mecânica ocorrente durante a escovação dentária. [1]

A erosão dentária, como citado anteriormente, pode ser originária de diversos fatores, ou do agrupamento dos mesmos e, por isso, classifica-se tal patologia segundo sua etiologia em extrínseca ou intrínseca. Esta última refere-se à patologia oriunda dos efeitos de ácidos exógenos, provenientes de causas variadas. O principal fator etiológico extrínseco da erosão dentária trata-se de ácidos provenientes da dieta, como alimentos e bebidas de baixo pH. Entretanto, ácidos contidos nos produtos de higiene bucal, bem como nas formulações de medicamentos, também são fatores que podem acarretar o processo da erosão dentária devido a queda do pH bucal ou à redução da

secreção salivar e de sua capacidade tampão. Outro fator igualmente relevante é o derivado do ambiente de trabalho, pois o pH bucal de alguns trabalhadores também sofre redução devido à exposição rotineira do indivíduo com ácidos industriais, fertilizantes ou ácidos alimentícios (provedores profissionais). [1]

Embora até o momento tenha sido citado o pH como fator causador principal da erosão dentária, um estudo realizado em 2003 pelos autores LUSSI, SCHARER, GUDMUNDSSON e SEOW [16][17][18] afirma que o potencial erosivo, no caso de bebidas de baixo pH, é igualmente dependente das propriedades quelantes do ácido, frequência de consumo e duração da ingestão, bem como da concentração total de ácido presente no produto, a qual determina a quantidade de íons hidrogênio disponíveis para interagir com o esmalte dentário. [1][15]

A erosão dentária intrínseca, por sua vez, trata-se da patologia oriunda da ação crônica e regular de ácidos endógenos sobre a superfície dentária. Tais ácidos podem ser originários de refluxo gastroesofágico, regurgitação, alcoolismo, gravidez ou distúrbios provenientes do sistema nervoso tais como anorexia e bulimia nervosa. [1][11] Em todos estes casos, o suco gástrico é o principal responsável pela erosão na dentição, geralmente na face lingual dos dentes, dos indivíduos afetados.

A erosão dentária de ambas etiologias dependem, além da presença de ácidos na cavidade oral, de outras variáveis relacionadas com o próprio indivíduo, como o fluxo e a capacidade tampão/ neutralizadora de pH da saliva do mesmo, bem como a formação da película adquirida (derivada de mucinas salivares). [1][15] Logo, a ocorrência de erosão dentária também mostra-se diretamente relacionada com a susceptibilidade do próprio indivíduo.

Cabe ressaltar ainda que a erosão dentária ocorre geralmente concomitantemente com outras formas de atrição, perda da estrutura dental causada pelo contato dente-dente, e abrasão, perda da estrutura dental causada por outros

tipos de desgastes físicos, como o ato da escovação ou a própria abrasão lingual. [15] Assim, devido a interação química, biológica e de fatores comportamentais apresentados pela patologia, para realizar o controle da perda estrutural por erosão torna-se necessária a consideração de sua natureza multifatorial. [11] As figuras 3 e 4 ilustram uma lesão ocasionada por erosão dental de um mesmo indivíduo.

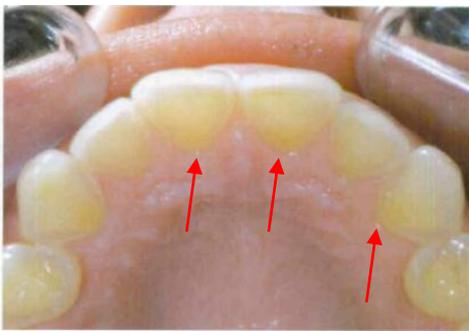


Figura 3: Erosão Dental na região palatina dos dentes (setas).



Figura 4: Desgaste nas superfícies vestibulares do paciente (setas).

Fonte: BARTLETT, D. Etiology and Prevention of Acid Erosion. Compendium. November/December 2009 – Volume 30, Number 9

4.2.2 Métodos de tratamento e prevenção atuais da erosão dentária

Em relação aos tratamentos e prevenções da erosão dentária, destaca-se a importância da prevenção primária, ou seja, o tratamento e a eliminação das causas antes da ocorrência da lesão dental. [9] Entretanto, devido à dificuldade apresentada pelos pacientes em controlar os possíveis fatores etiológicos causadores da patologia, como a ingestão de bebidas de baixo pH ou o contato com ácidos endógenos (por diversos fatores), estratégias foram desenvolvidas para prevenir ou deter a erosão dental. [9]

A aplicação tópica de flúor como método preventivo da erosão (associada à abrasão) demonstra-se relevante, conforme estudo realizado em 1994 [19], pois os

espécimes submetidos ao dentifrício com flúor apresentaram um desgaste significativamente menor do que os espécimes submetidos ao dentifrício sem flúor. Todavia, um estudo realizado posteriormente, em 2004, pelo autor BUCHALLA [20], demonstrou que a aplicação de flúor em gel de alta concentração, apresentou-se mais eficaz na proteção, bem como na redução do desenvolvimento de erosão, do esmalte submetido aos desafios de erosão e de erosão-abrasão do que apenas a aplicação do dentifrício fluoretado, o qual apresentou proteção reduzida quando comparado com o primeiro. [1][9]

A aplicação de verniz fluoretado de alta concentração demonstra, assim como o gel fluoretado, diminuição do desenvolvimento de erosão. [9] Como benefício, esse dentifrício apresenta também proteção mecânica, como constatado por estudo realizado em 2004 pelo autor VIEIRA [21], no qual também se averiguou que o produto auxiliou para que ocorresse uma perda inferior de cálcio quando comparado com os dentifrícios observados acima devido ao mesmo apresentar reserva de flúor.[1][9]

O estudo do autor WEST, concluído em 1999 [22], também demonstra a alternativa de adição de cálcio às bebidas de baixo pH como método preventivo ao desenvolvimento da erosão dentária, pois o resultado da pesquisa afirmou a diminuição do potencial erosivo de tais bebidas, tanto *in vitro* quanto *in situ*. [1]

Estudos mais recentes têm investigado o uso de aplicação de *lasers* de alta intensidade como medida preventiva, os quais apresentam até o momento resultados promissores no aumento da resistência do esmalte à desmineralização conforme a irradiação incidida. Os *lasers* de Nd:YAG e CO₂ apresentaram tal resultado, embora o *laser* de Nd:YAG tenha sido mais efetivo. [9] Com o mesmo intuito que o estudo anterior, testou-se os *lasers* de Ho:YAG, Ho:YLF, Argônio, Er:YAG e Er,Cr:YSGG, juntamente com os *lasers* de Nd:YAG e CO₂. O resultado obtido mostrou-se satisfatório quanto a possibilidade de aumento da resistência do esmalte à desmineralização ressaltando os *lasers* de érbio e de CO₂ pulsados como mais promissores devido a sua

forte interação com os principais constituintes do esmalte e da dentina: água e hidroxiapatita. [8] Como acréscimo, tal estudo observou ainda os efeitos combinados do uso tópico do flúor e do tratamento a *laser*, os quais mostraram-se positivos. [9] Entretanto, cabe ressaltar que tais estudos foram realizados com o intuito de averiguar a capacidade de melhora na resistência do esmalte aos ácidos originados da cárie e não aos ácidos causadores da erosão dental. Por isso, embora a aplicação *laser* mostre-se de grande potencial para tal uso, tornam-se necessárias pesquisas com o objetivo de averiguar de fato os efeitos do tratamento *laser* para inibição da erosão dentária. [9]

Além dos tratamentos propostos acima deve-se considerar a prevenção biológica natural do próprio indivíduo, como a neutralização do ácido pela saliva e a proteção do esmalte pela atuação da película adquirida. Cabe ressaltar que a formação da película adquirida, a qual tem demonstrado capaz de proteger o esmalte em determinadas situações, reduzindo sua perda e seu amolecimento, ocorre devido à deposição de cálcio e de fosfato contidos na saliva. Logo, esta última está diretamente relacionada com a produção da película, mostrando-se prevalente como prevenção natural da erosão. [1] Este importante papel de prevenção salivar ocasionado pela formação de película adquirida é acrescido pela capacidade tampão que a saliva apresenta, bem como pelo fluxo salivar, os quais auxiliam na neutralização dos ácidos que provocam erosão e, juntamente com a formação da película adquirida, minimizam o desgaste da superfície do esmalte quanto à erosão e abrasão. [1]

Deve-se considerar também mudanças comportamentais nos hábitos do indivíduo como método de prevenção da erosão dentária. Entre os fatores relevantes podem-se citar a redução da frequência e do tempo de exposição com substâncias ácidas, bem como o aumento da ingestão de queijos e de leite. Este último baseia-se na hipótese de redução do potencial erosivo dos ácidos através do consumo de tais alimentos realizada por estudo cuja justificativa sustenta-se no fato de crianças que

apresentam erosão dentária bebem leite e água com menos frequência e consomem bebidas ácidas, frutas e suplementos vitamínicos mais frequentemente. [1]

A adoção de gomas de mascar sem açúcar, com a finalidade de elevar o fluxo salivar, se enquadra também como alternativa plausível e econômica para auxílio da prevenção da erosão dentária. Neste âmbito, pode-se citar igualmente a adoção do hábito de enxágue bucal com água após a ingestão de ácidos, bem como a não escovação subsequente, como tentativa para evitar o atrito mecânico sobre a superfície dentária a ser potencialmente erodida. [1]

4.3 Princípios e Construção do Laser

Charles Townes, no ano de 1954, apresentou à comunidade científica um dispositivo denominado MASER (*Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*), um amplificador de microondas por emissão estimulada. Em 1958, Townes juntamente com Schawlow propôs estender os princípios do MASER para as regiões do infravermelho e visível do espectro eletromagnético. Dessa forma, surgiu o LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*), os quais podem ser classificados, segundo o emprego de sua potência, em *Lasers* de Alta (LAP) ou *Lasers* de Baixa Intensidade (LBI) [23]. No tópico 4.4 será discutido seu mecanismo de funcionamento, bem como suas características.

4.4 Mecanismos de Funcionamento do Dispositivo de Laser

Inicialmente cabe o conhecimento prévio da construção do equipamento emissor de radiação *laser*. Este, é basicamente constituído por três elementos básicos: o meio ativo, o mecanismo de bombeamento e a cavidade de ressonância. As

principais características, bem como suas respectivas funções apresentam-se dispostas nos parágrafos posteriores.

A cavidade de ressonância compõe-se de uma cavidade cilíndrica conjugada com dois espelhos refletores côncavos paralelos, localizados distalmente em suas bases. Tais espelhos possuem, respectivamente, 100% e 97 % de refletância dos fótons, as quais são necessárias para a amplificação da luz *laser*, bem como para sua liberação para o meio externo. [23][24] A emissão do *laser* ocorre devido a existência de um pequeno orifício realizado concentricamente ao espelho de menor refletância, a qual tem esta propriedade justamente para tal fim.

Entretanto, esta não é a única função aplicada aos espelhos refletores e, logo, à cavidade ressonante. O processo de amplificação, citado no parágrafo anterior, ocorre internamente a esta cavidade, através da interação da luz *laser*, refletida pelos espelhos, com o meio ativo constituidor do dispositivo.

O meio ativo, por sua vez, trata-se do meio composto por um conjunto de átomos, moléculas ou íons, os quais são excitáveis por meio do bombardeamento de energia contínua, o que permite a emissão estimulada de fótons, princípio físico básico do *Laser*. [23] Este meio ativo, apresentado em forma sólida, gasosa ou líquida, determina a pureza espectral e o comprimento de onda final do *laser*, caracterizando diferenças na emissão e na ação biológica oriunda de sua aplicação no tecido.

Todavia, para que o dispositivo inicie o processo de emissão estimulada torna-se necessária a doação de energia, a qual é feita por uma fonte primária de energia (mecanismo de bombeamento), excitando o meio ativo e iniciando o processo. Esta fonte pode ser lâmpada flash, descarga elétrica, bombardeamento eletrônico, bombeamento químico, bombeamento por injeção de portadores ou outro *laser*. Abaixo encontra-se o diagrama esquemático de um dispositivo *Laser* (Figura 5).



Figura 5: Diagrama esquemático de um laser.

Fonte: <http://blogs.forumpcs.com.br/bpiropo/2005/04/21/laser-de-silicio-i-laser/> acessado em 01 de abril de 2012

Com o conhecimento prévio da montagem do equipamento, basta compreender o princípio de seu funcionamento, o qual se baseia na emissão estimulada. Primeiramente, para iniciar a ação do *laser* é necessário que ocorra a excitação da maioria dos elétrons encontrados no meio ativo. Para tal finalidade se faz uso de uma fonte externa, a qual fornece energia para que estes elétrons saltem para um nível mais energético. Quando a maioria dos átomos apresentam elétrons em seu estado excitado descreve-se o fenômeno como inversão de população. Devido à tendência de retorno dos elétrons ao nível fundamental, por meio do decaimento espontâneo e da conservação de energia, ocorre, portanto, a emissão de fótons, os quais, dentro da cavidade ressonante, estimulam os demais elétrons, em um processo em cadeia. Ou seja, a emissão estimulada irá produzir mais fótons da mesma frequência, os quais se propagam em todas as direções.

Com o intuito de gerar um feixe direcional, bem como amplificar a radiação, são estrategicamente posicionados os espelhos descritos acima. Estes permitem que os elétrons encontrados no eixo principal (que anteriormente percorriam direções diversas) agora tracem direções perpendiculares aos espelhos. Neste trajeto os elétrons continuam a realizar a emissão estimulada através do choque que ocorre entre eles. Deste modo ter-se-á um feixe com características específicas, descritas no tópico 4.4.1 "Propriedades da Luz Laser".

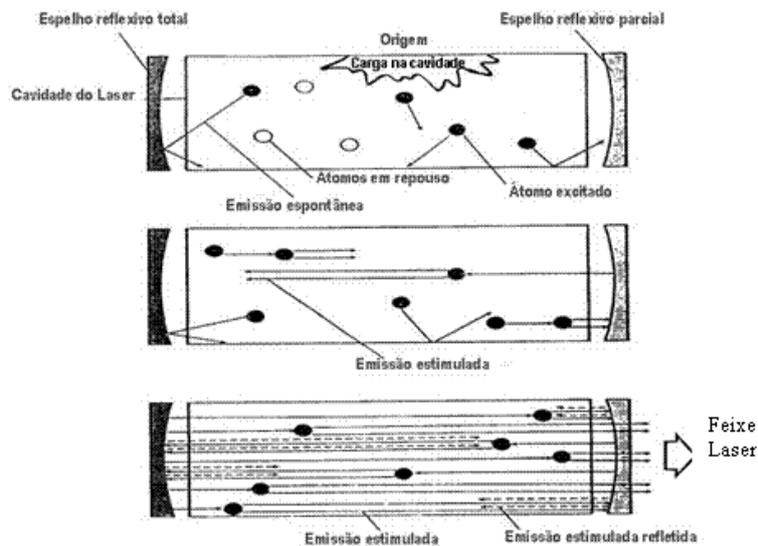


Figura 6: Diagrama esquemático do processo de emissão estimulada.

Fonte: http://www.hpvnnews.com.br/hpv_fisica_laser.php acessado em 01 de abril de 2012

4.4.1 Propriedades da Luz *Laser*

Neste tópico serão discutidas as principais características da luz *laser*, a qual se difere das demais fontes luminosas devido às seguintes propriedades:

- **Monocromaticidade:** toda radiação produzida pelo *laser* consiste em um único comprimento de onda e, por tanto, com uma única cor. Tal fato ocorre devido à igualdade da energia carregada pelos fótons estimulantes e estimulado.
- **Colimação:** o feixe produzido tem caráter direcional, sendo as ondas eletromagnéticas constituintes paralelas entre si (fótons emitidos inclinados com o eixo central não contribuem para o feixe final). A dispersão é mínima. (Figura 7)

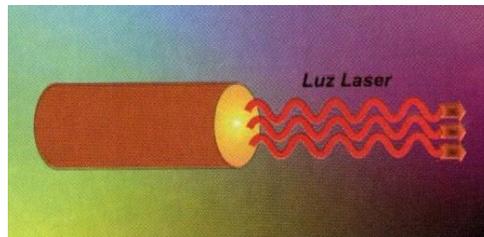


Figura 7: Colimação da luz *laser*.

Fonte: CHAVANTES, M. C. *Laser em bio-medicina: princípios e prática : guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas*. São Paulo: Atheneu, 2009. P. 17

- Coerência espacial: um feixe produzido por um *laser* tem uma divergência muito pequena, assim, pode manter uma alta intensidade do feixe mesmo após longas distâncias.
- Coerência temporal: as ondas de radiação *laser* apresentam sincronia, ou seja, propagam-se em fase no tempo. [23] (Figura 8)



Figura 8: Coerência da luz *laser*.

Fonte: CHAVANTES, M. C. *Laser em bio-medicina: princípios e prática : guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas*. São Paulo: Atheneu, 2009. P. 17

- Intensidade do feixe *laser*: a potência da luz *laser* pode atingir ordens de terawatt (10^{12} W). Essas grandes intensidades ocorrem em *lasers* pulsados, onde a

energia acumulada em longo tempo é emitida toda em um intervalo de tempo muito pequeno (10^{-12} s).

- Polarização: alguns dispositivos *lasers* podem apresentar polarizadas suas ondas emitidas [23], ou seja, os campos elétrico e magnético da onda se encontram situados em planos ortogonais (90 graus) e variando em fase (zero graus). (Figura 9)

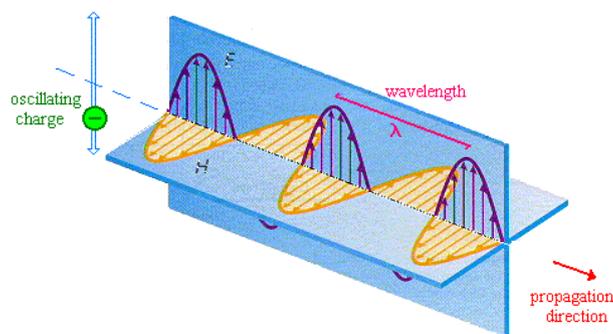


Figura 9: Polarização de ondas.

Fonte: <http://www.vivasemfio.com/blog/tag/uhf/> acessado em 01 de abril de 2012

4.4.2 Interação da Luz *Laser* com a Matéria Biológica

A radiação eletromagnética oriunda do *laser* tem a capacidade de interação com sistemas biológicos e físicos mediante a transferência ou não de energia entre estes sistemas. Mais especificamente, ao atingir um tecido biológico, a radiação *laser* pode ser transmitida, absorvida, refletida ou espalhada [25]. Abaixo apresentam-se detalhadas tais interações (Figura 10)

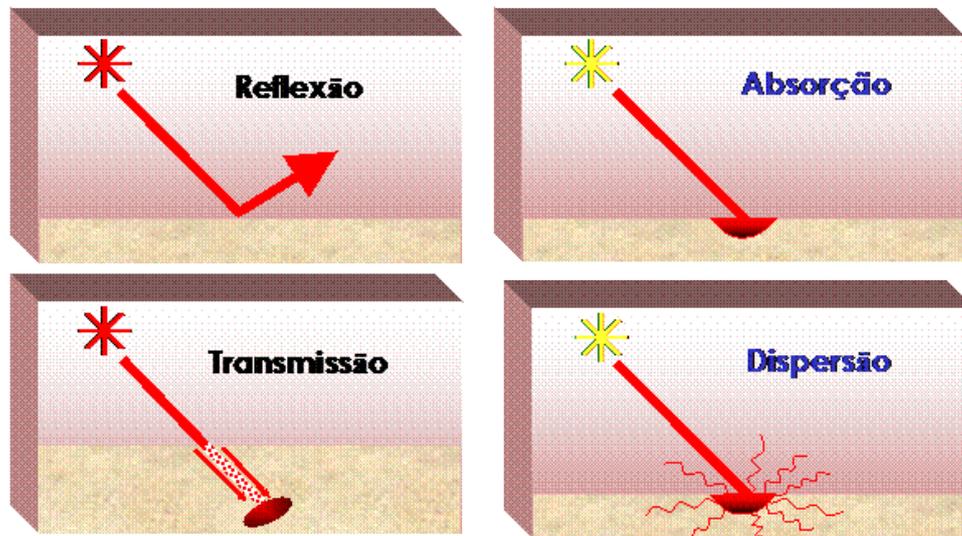


Figura 10: Possíveis interações da luz *laser* como tecido biológico.

Fonte: <http://www.lasermag.pt/aplicacao-tecnica-laser-medicina-dentaria.php> acessado em 01 de abril de 2012

4.4.2.1 Transmissão:

A transmissão trata-se da capacidade da radiação atravessar o tecido sem sofrer atenuação. [23] (Figura 10 e 13)

4.4.2.2 Absorção:

A absorção, interação na qual é gerado no tecido alvo diversos tipos de efeitos devido a transferência de energia para o tecido, ocorre unicamente quando a frequência de onda incidente é igual à frequência natural das vibrações livres das partículas. (Figura 10 e 13) Desta forma, as ondas eletromagnéticas ao atravessarem o meio material interagem com as moléculas do tecido, podendo provocar efeitos fotofísicos-químicos, fototérmicos, fotomecânico-acústicos e fotoionizantes, efeitos

estes que serão descritos no tópico 3.4. [23] Quando um fóton incide no meio, ele pode ser absorvido por uma molécula ou átomo e ter sua energia transformada em energia cinética da mesma, gerando mudança conformacional da molécula ou ainda ionizando o meio com a retirada de um elétron [26].

Em um meio material idealizado, no qual só há o processo de absorção, a intensidade luminosa decresce exponencialmente, o que pode ser descrito pela Lei de Lambert-Beer (equação 1):

$$I(z) = I_0 \times e^{-\mu z} \quad (\text{equação 1})$$

onde $I(z)$ é a intensidade na distância z , I_0 , a intensidade incidente, μ é o coeficiente de absorção do material e z , o caminho óptico da luz.

É sabido que tecidos biológicos apresentam uma grande variedade quanto ao espectro de absorção, isto é, para mesmo comprimento de onda, os tecidos apresentam absorbâncias diferentes, dependendo da composição molecular do tecido [26]. Abaixo encontra-se exposto um gráfico ilustrando tal acontecimento através do coeficiente de absorção de alguns cromóforos em determinados comprimentos de onda. (Figura 11)

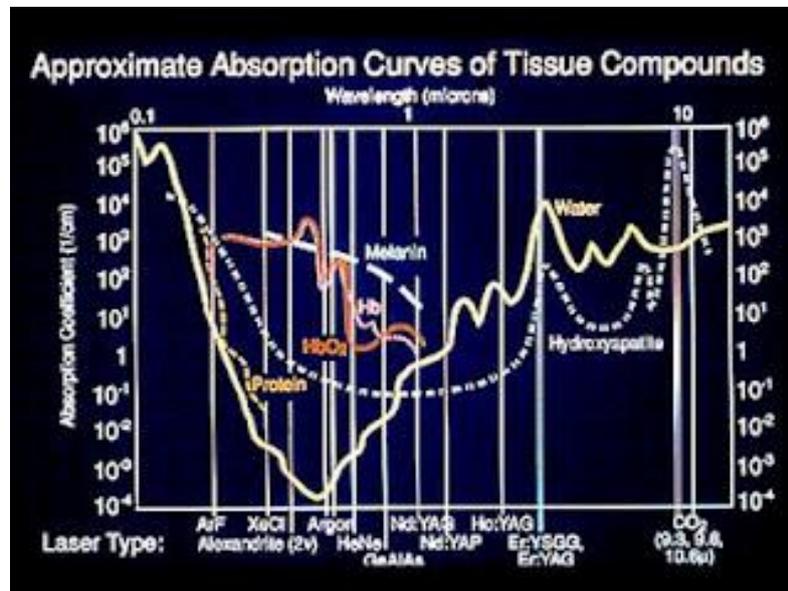


Figura 11: Absorção nos tecidos biológicos em diferentes comprimentos de onda. Fonte: <http://lasergumdentist.blogspot.com.br/2009/04/laser-tissue-interaction-in-periodontal.html> acessado em 01 de abril de 2012

Como pode-se verificar, a maior parte da absorção, nos tecidos biológicos, é ocasionada pela água ou por macromoléculas, como proteína e melanina. A água é a principal responsável pela absorção no infravermelho e as proteínas pela faixa UV do espectro. Na faixa do vermelho e IV próximo tanto a água quanto as macromoléculas absorvem relativamente pouco, possibilitando uma maior penetração da luz nos tecidos. Por isso, a faixa entre 600-1200 nm é bastante empregada para tratamentos em tecidos mais profundos.

4.4.2.3 Espalhamento:

O fenômeno de espalhamento ou difusão, interação a qual ocorre quando a frequência de onda incidente não corresponde à frequência natural das partículas, consiste na penetração da luz *laser* no tecido e seu consequente espalhamento, sem sofrer absorção [27]. Ou seja, a radiação atravessa o tecido, colidindo com as partículas sem gerar efeitos relevantes. [23] (Figura 13)

Para a maioria dos tecidos biológicos o principal fator de atenuação da intensidade do feixe é o espalhamento de fótons. Esse espalhamento é devido às moléculas do material e às superfícies de diferentes estruturas alvo. O espalhamento pode ser dividido em dois tipos: elástico, no qual o fóton apenas muda de direção, e inelástico, onde há mudança de energia do fóton [26].

4.4.2.4 Reflexão:

A reflexão é definida como o fenômeno no qual a radiação eletromagnética incide em uma superfície e retorna para o meio de origem sem que haja interação com o tecido. [23] (Figura 10 e 13) Em geral, a superfície refletora é uma interface física entre dois materiais de índice de refração diferentes [28].

Quando a superfície é lisa, assume-se que suas irregularidades são pequenas quando comparadas ao comprimento de onda da radiação incidente, ocorrendo a reflexão especular (Figura 12(a)). Por outro lado, quando a rugosidade da superfície é igual ou maior que o comprimento de onda da radiação incidente, ocorre a reflexão difusa (Figura 12(b)). Este último caso é um fenômeno comum em tecidos biológicos [28].

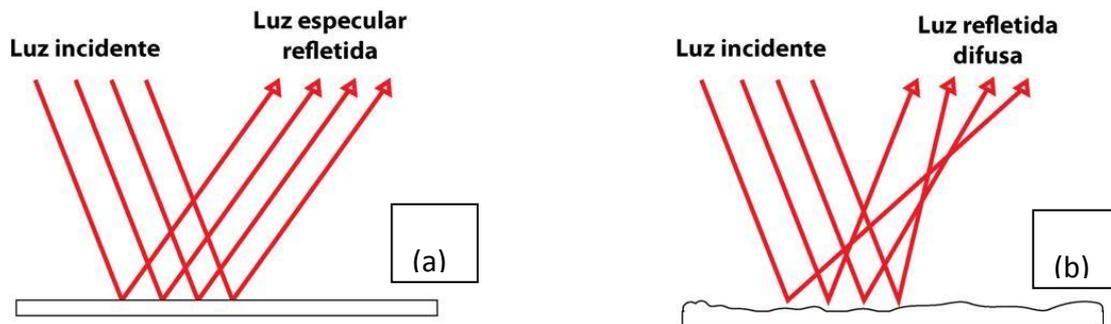


Figura 12: (a) Reflexão especular. (b) Reflexão difusa.

Fonte: <http://www.chrisparra.com/archives/14> acessado em 01 de abril de 2012

4.4.2.5 Refração

A refração é uma interação que também pode ocorrer. Esta, a qual ocorre em consequência da mudança de velocidade da luz incidente, trata-se da mudança na angulação do feixe ao atingir o tecido alvo.

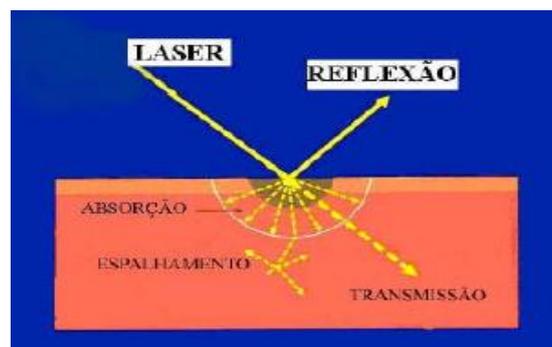


Figura 13: Ilustração das diferentes interações da radiação *laser* com o tecido biológico.

Fonte: DAMANTE, C. A. Avaliação clínica e histológica dos efeitos do *laser* de baixa intensidade (GaAlAs) na cicatrização de gengivoplastia em humanos. Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo, 2003.

4.5 Efeitos da irradiação *Laser* no Tecido Biológico

Como descrito anteriormente, a luz *laser* tem a capacidade de interagir com o tecido biológico. Tais interações determinam ações e, conseqüentemente efeitos no mesmo. Neste tópico serão discutidos em maiores detalhes estes efeitos.

4.5.1 Efeito Fototérmico

Para a obtenção do efeito fototérmico, o qual apresenta densidade de potência variante entre 200 e 10.000 W/cm², utilizam-se *lasers* de alta potência, como o CO₂, Nd:YAG e Argônio.

Os efeitos oriundos da transformação cinética em térmica consistem na vaporização, carbonização e coagulação do tecido, ou seja, em reações de destruição ou alteração permanente da estrutura do tecido. [23][29]

4.5.2 Efeito Fotoablativo

Igualmente ao efeito descrito acima, este fenômeno também é essencialmente térmico. Entretanto, distingui-se do anterior pela geração de plasma. Tal fenômeno provoca a desintegração do tecido por meio de ondas de choque, as quais produzem sua quebra estrutural através da ruptura intermolecular provocada pela separação eletrônica, a qual por sua vez, é ocasionada pela geração de um campo elétrico. [23]

Para se gerar tal efeito utilizam-se *laser* de alta potência, com densidade de potência na ordem de 10¹⁰W/cm² (em pulsos de 10 nanosegundos) ou de 10¹⁴W/cm² (em pulsos de 30 picossegundos) [23].

4.5.3 Efeito Fotomecânico-acústico

Este efeito distingue-se dos anteriores devido a não possuir propriedades térmicas. Seu princípio baseia-se na precisa remoção mecânica do tecido com alta velocidade através de pulsos de altíssima densidade de potência em um curto período de tempo (máxima de 10^{-6} s). [23] O processo ocorre devido à rápida expansão ou ondas de choque acústicas capazes de causar rupturas mecânicas, ocasionadas pelos altos níveis de energia do pulso *Laser*. Tal ruptura molecular é oriunda da conversão de fótons de alta energia em energia vibracional. [23]

4.5.4 Efeito Fotoionizante

Este efeito, o qual consiste em absorção seletiva, é alcançado através do uso de *Lasers* de alta potência emissores no ultravioleta, como os Excimers (ArF_193nm; XeCl_308nm; Nd:YAG_355nm).

O efeito Fotoionizante, produzido nos comprimentos de onda situados no espectro entre 200nm e 350nm do ultravioleta (absorvidos nos primeiros micrometros do tecido), trata-se do resultado da quebra da ligação quaternária do DNA, a qual ocasiona uma penetração superficial e sem necrose. [23]

4.5.5 Efeito Fotofísico-químico

O efeito fotofísico-químico, distintamente dos anteriores, é resultado do uso de *lasers* de baixa potência, os quais são utilizados para biomodulação e terapia fotodinâmica.

4.5.5.1 Efeito Fotofísico

Este efeito ocasiona variações no potencial da membrana tanto na transmissão do impulso nervoso e na permeabilidade da membrana aos íon Na^+ e, conseqüentemente eleva a síntese de ATP intracelular, glicólise e oxidação fosforilativa, em curto prazo, e a transcrição e replicação de DNA a longo prazo. [23]

4.5.5.2 Efeito Fotoquímico

O efeito fotoquímico, gerado por conseqüências da interação da luz *laser* com o fotoceptor, ocorre devido à aceleração na transferência de elétrons, por incremento da produção de superóxido e formação de oxigênio molecular, além da absorção da luz pela mitocôndria, o que pode alterar a síntese de DNA e RNA, assim como a proliferação celular.

Entre os efeitos fotoquímicos podem-se citar a bioestimulação e a terapia fotodinâmica, como citado anteriormente. A primeira consiste no efeito da luz *laser* sobre os processos moleculares e bioquímicos que normalmente ocorrem nos tecidos, como cicatrização e reparo tecidual. A terapia fotodinâmica, por sua vez, trata-se de um processo pelo qual o uso terapêutico do *laser* induz reações tissulares e é utilizado no tratamento de processos patológicos. Este efeito pode também ser utilizado como utensílio auxiliador de método diagnóstico para detecção de tecidos que refletem luz, através da fluorescência tecidual.

Abaixo encontram-se ilustrações sobre os efeitos ocasionáveis no tecido biológico, sua curva gaussiana típica e a relação destes efeitos em relação à diferença de densidade de potência e tempo. (Figuras 14, 15 e 16)

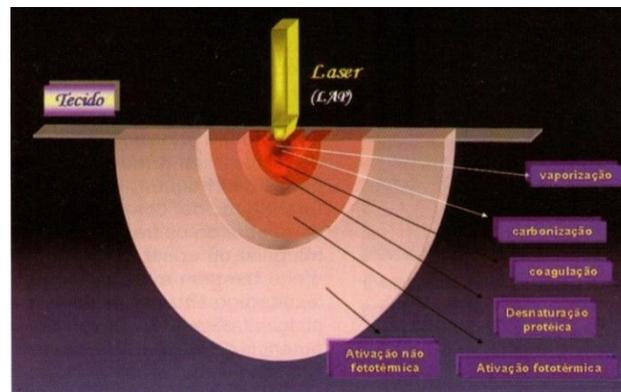


Figura 14: Efeitos Ocasionáveis no Tecido Biológico.

CHAVANTES, M. C. *Laser em bio-medicina: princípios e prática : guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas.* São Paulo: Atheneu, 2009.

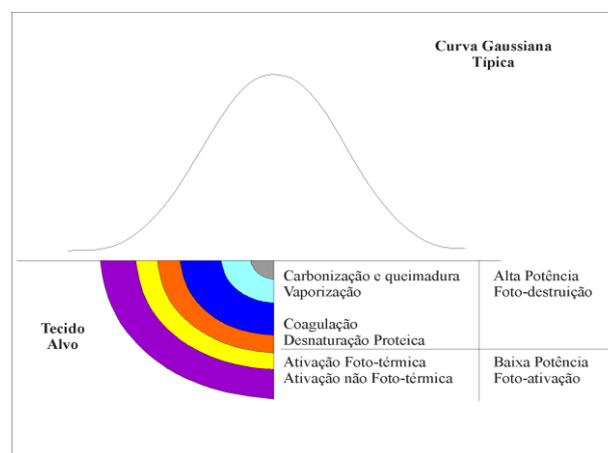


Figura 15: Curva Gaussiana Típica conforme Efeitos Ocasionáveis no Tecido Biológico.

Fonte: OHSHIRO, T.; CALDERHEAD, R. G. Laser therapy - a decade further on. *Laser Therapy*, v.10, p.5-6, 1998. Apud LOPES, L. A. *Análise in vitro da Proliferação Celular de Fibroblastos de Gengiva Humana Tratados com Laser de Baixa Potência.* Tese de Mestrado. São José dos Campos, SP. 1999.



Figura 16: Efeitos Ocasionáveis no Tecido Biológico devido à Interação do *Laser* em relação à diferença de Densidade de Potência e Tempo.

Fonte: CHAVANTES, M. C. *Laser em bio-medicina: princípios e prática : guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas.* São Paulo: Atheneu, 2009.

4.6 O *Laser* de Er,Cr:YSGG

O *laser* de óxido de gálio, escândio e ítrio dopado com cromo e érbio (mais conhecido como *laser* de Er,Cr:YSGG) trata-se de um *laser* emissor no infravermelho pulsado de comprimento de onda 2,78 μm e pulso máximo de energia de 300mJ [30], cuja composição sólida consiste em 30% de concentração de érbio, 2% de concentração de cromo e 68% dos dopantes citados acima, perfazendo a fórmula química $\text{Y}_2.93\text{Sc}1.43\text{Ga}3.64\text{O}12$. [31] Tal composição cristalina cúbica de densidade $5,67\text{g}/\text{cm}^3$ possibilita a emissão da luz com características específicas, como índice de refração de 1,92 a $1\mu\text{m}$ e condutibilidade térmica de $8\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, característica esta analisada em estudos citados posteriormente neste tópico. [31] Cabe ressaltar ainda que, nos sistemas comerciais, a energia do *laser* é entregue através de um sistema de fibra óptica, o qual possui um terminal de ponta de safira de diâmetro variável. [30]

Nos últimos anos tal *laser* tem recebido propostas para aplicações na área odontológica, mais especificamente na ablação de tecido duro. Características na superfície de ablação e danos térmicos são fatores críticos para análise da eficácia do *laser* nesta aplicação. O *laser* de Er,Cr:YSGG mostra-se, portanto eficiente, conforme afirmam estudos que averiguam seu elevado coeficiente de absorção, o qual permite alta deposição de energia e mínima difusão de calor, resultando em taxas de ablação com danos térmicos colaterais mínimos.[30][32] Esta afirmação baseia-se na capacidade de absorção do mesmo pela hidroxiapatita e pela água, principais componentes do órgão dental em questão. (Figura 11)

A radiação deste *laser*, em particular, pode quebrar ligações e induzir reações químicas de ablação, provocando alterações termicamente induzidas sobre a superfície do esmalte e da dentina. Como consequência deste processo de vaporização e microexplosões – ocasionadas pela água retida na matriz de hidroxiapatita - observa-se formação de rugosidades e irregularidades na superfície (similares ao de um condicionamento ácido). [30]

Entre as modificações e acontecimentos oriundos da aplicação do *laser* sobre a superfície dental podem-se citar a alteração na relação cálcio-fósforo, a redução do índice de carbonato-fosfato e do conteúdo de água, hidroxila e componentes orgânicos. [2][33] Estes fatores levam à formação de compostos mais estáveis e menos ácido-solúveis, reduzindo assim a susceptibilidade ao ataque ácido, o que consequentemente pode criar a remineralização dos microespaços. [30][34]

A remineralização citada acima pode ser justificada pela alteração de densidade de carbonato na apatita ocasionada pela irradiação. Em estudo publicado em 2010 [34]observou-se a redução das intensidades de carbonato após aplicação de *laser* de Er,Cr:YSGG e, conseqüente diminuição do grau de dissolução do material. Assim, os pesquisadores consideraram o carbonato (presente em excesso naturalmente no esmalte dentário) como uma impureza que acarreta alta solubilidade e baixa

resistência à desmineralização do tecido, de modo que a redução dos carbonatos torne desejada para fins de prevenção da cárie e de outras patologias ocasionadas pelo contato com ácidos, como a erosão dentária, estudada no atual projeto. [34]

Logo, o *laser* de Er,Cr:YSGG, quando empregado sob parâmetros adequados de densidade de energia e refrigeração, possibilita a remoção do esmalte, dentina e cárie com quantidades mínimas de perturbação térmica para o dente residual, além de causar melhoras da resistência à desmineralização do esmalte, justificando sua pesquisa na odontologia[30][34].

4.7 Aplicação da irradiação *Laser* na Odontologia

A aplicação de *lasers* tem avançado em diversas áreas tecnológicas, sendo estendido para aplicações em saúde, incluindo na área odontológica, a qual tem feito uso de *lasers*, desde a década de 60, a fim de buscar a adequação de parâmetros, como comprimentos de onda, regime de operação (contínuo ou pulsado), duração do pulso, energia do pulso, taxa de repetição, fluência, diâmetro do feixe e demais parâmetros adequados à aplicação que se deseja. [8].

Entretanto, para a aplicação de tal tecnologia torna-se necessária a compreensão da interação da radiação com a matéria, como discutido no tópico 3.3 do presente projeto. [2][8] Portanto, os desafios enfrentados para alcançar os objetivos almejados na aplicação desta tecnologia em saúde são transpostas por pesquisas que tornaram viável a prática deste procedimentos para o uso clínico. [2]

Estudo realizado por BACHMANN, em 2004 [2], listou aplicações já utilizadas na prática clínica, das quais podem-se citar a prevenção da cárie dental e a diminuição da hipersensibilidade dentária, bem como a desinfecção intracanal e remoção de tecido cariado. Atualmente, pode-se ampliar essa gama de aplicações através de pesquisa

nos próprios sites de fabricantes do aparelho. Entre as pesquisas realizadas nos sites das empresas DMC, MMO Opto Eletrônicos, na empresa Fotona e na Sociedade de Odontologia a *Laser* (SOL) observou-se a utilização de dispositivos *laser* para a realização de endodontia, peridontia, auxílio na aplicação de implantes, apicectomia (cirurgia cuja finalidade é a remoção da lesão que se forma no ápice da raiz dental) e cirurgia de tecido mole, bem como para procedimentos de ablação, fotopolimerização, tratamentos de gengivas e clareamento dental, entre outras aplicações oferecidas por empresas atuantes no mercado atual. Pode-se observar, portanto, um crescimento significativo nas aplicações.

A utilização de *lasers* de comprimentos de onda específicos torna-se necessária para tais aplicações, pois deve-se considerar a interação que o mesmo terá com o tecido irradiado. Em aplicações dentárias considera-se a interação direta com o esmalte e a dentina. Para a interação química com o esmalte do dente, por exemplo, deve haver grande quantidade de calor em uma pequena profundidade para que não ocorram injúrias nos tecidos moles adjacentes. [8] Para tal fim, o uso de *laser* de alta intensidade, como os *lasers* de érbio e CO₂, são amplamente utilizados, pois os mesmos interagem principalmente com a hidroxiapatita e a água, principais componentes dentais.

Entretanto, o sucesso da ação do *laser* não depende apenas da pura interação do *laser* com o tecido, sendo também influenciado pelas interações térmicas resultantes da interação *laser*-tecido, as quais podem gerar processos de remoção mineral, bem como a constituição de novas fases cristalinas e, logo, tal parâmetro também deve ser considerado para o caso das aplicações clínicas.

Abaixo encontram-se ilustradas as diferentes fases de estabilidade térmica dos principais compostos do esmalte (Figura 17).

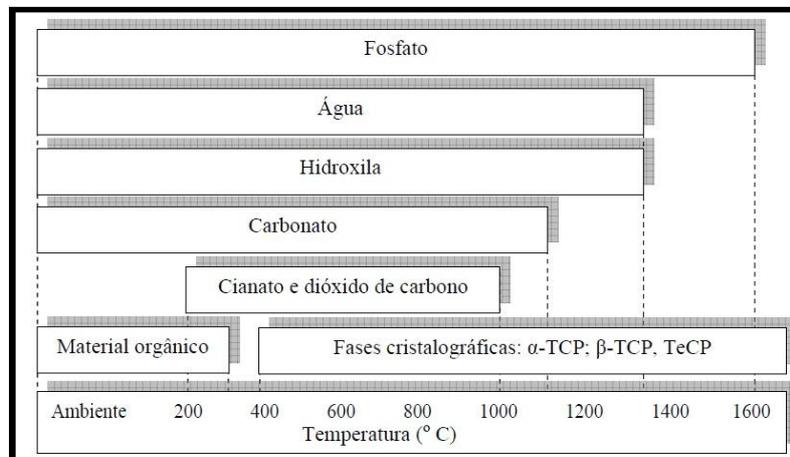


Figura 17: Estabilidade térmica dos principais compostos do esmalte em função de temperatura.

Fonte: ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com *Laser* de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. 2007

4.8 Aplicação do *Laser* para Tratamento e/ou Prevenção de Erosão Dentária

A erosão dental é uma patologia crônica, caracterizada por perda localizada de tecidos dentais que envolve a remoção química do tecido duro superficial por ação ácida e/ou quelação sem envolvimento de bactérias. [9]. Como abrangido no tópico 4.2.2, o tratamento preventivo é importante para eliminação das causas antes que a lesão ocorra. Dentre as técnicas, apresentadas igualmente no tópico 4.2.2, para a prevenção sobre a ação ácida de diferentes agentes, tem-se utilizado a aplicação de *lasers*, o qual tem apresentado ação na redução da erosão dental [9].

Estudos mostraram que os *lasers* de CO₂ e Nd:YAG tiveram ações efetivas com a ação na prevenção de erosão dental. A aplicação do fluoreto somado à ação do *laser* na prevenção da erosão também tem apresentado resultados em melhoras na resistência do dente quando na ação ácida[9](Tabela 2). Em estudo semelhante mediu-se massa e dureza do dente como forma de verificação da ação erosiva [3] pela divisão de grupos que segue: Grupo 1 sem tratamento, Grupo 2 aplicação de fluoreto fosfato

acidulado - APF por 4 min, Grupo 3 com revestimento absorvedor irradiado com *laser* Nd:YAG, Grupo 4 Irradiado com Nd:YAG e depois revestido com APF.

Tabela 1: Desgaste significativo para cada Grupo estudado, sendo estes grupos de dentes bovinos com diferentes aplicações de *laser* com a aplicação de fluoreto e sem a aplicação de fluoreto.

<i>Groups</i>	<i>5th day wear</i>	<i>10th day wear</i>
G1, Control	1.83 ± 0.41 a	2.67 ± 0.17 a
G2, APF gel	1.04 ± 0.27 bc	2.60 ± 0.31 ab
G3, F varnish	1.04 ± 0.46 bc	2.48 ± 0.32 ab
G4, 0.5 W Nd:YAG	1.13 ± 0.41 b	2.47 ± 0.30 ab
G5, 0.75 W Nd:YAG	1.07 ± 0.38 bc	2.44 ± 0.43 ab
G6, 1.0 W Nd:YAG	1.00 ± 0.34 bc	2.35 ± 0.53 ab
G7, APF gel + 0.75 W Nd:YAG	0.75 ± 0.27 c	2.27 ± 0.39 b
G8, 0.75 W Nd:YAG + APF gel	0.79 ± 0.28 bc	2.12 ± 0.51 b
G9, F varnish + 0.75 W Nd:YAG	0.76 ± 0.34 bc	2.47 ± 0.49 ab
G10, 0.75 W Nd:YAG + F varnish	1.09 ± 0.43 bc	2.45 ± 0.53 ab

Fonte:RIOS, D.; MAGALHÃES, A. C.; MACAHD, M. A. A. M.; SILVA, S. M. B.; LIZARELLI, R. F. Z.; BAGNATO, V. S.; BUZALAF, M.A.R. In Vitro Evaluation of Enamel Erosion After Nd:YAG *Laser* Irradiation and Fluoride Application. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 27, Number 5, 2009

Tabela 2: Média de Medidas de massa (g) das amostras de bovinos antes e após os tratamentos, desvio padrão (SD), e a diferença entre os valores iniciais pós tratamentos.

	<i>Mass (g)</i>			
	<i>Group 1</i>	<i>Group 2</i>	<i>Group 3</i>	<i>Group 4</i>
Baseline	2.5473 (±0.3736)	2.5114 (±0.5032)	2.3199 (±0.4798)	2.3648 (±0.4327)
After treatments	2.5317 (±0.3744)	2.4970 (±0.5032)	2.3060 (±0.4814)	2.3551 (±0.4320)
Difference	0.0156a (±0.0023)	0.0144a (±0.0023)	0.0139a (±0.0033)	0.0097b (±0.003)

Fonte:SOBRAL, M. P.; LACHOWSKI K.M.; ROSSI, W.; BRAGA, S. R. M.; RAMALHO, K. M. Effect of Nd:YAG *Laser* and Acidulated Phosphate Fluoride on Bovine and Human Enamel Submitted to Erosion/Abrasion or Erosion Only: An in Vitro Preliminary Study. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 27, Number 5, 2009

Tabela 3: Média de dureza Vickers de amostras humanas antes e após os tratamentos, desvio padrão (SD) e a diferença entre valores pré e pós tratamento.

	<i>Hardness (VHN)</i>			
	<i>Group 5</i>	<i>Group 6</i>	<i>Group 7</i>	<i>Group 8</i>
Baseline	346.3 (±26.9)	316.4 (±40.2)	333.9 (±59.4)	334.7 (±43.2)
After treatments	153.5 (±15.6)	185.2 (±19.2)	184.3 (±33.2)	298.9 (±32.8)
Difference	192.7a (±28.4)	131.2b (±40.8)	149.6ab (±67.7)	35.8c (±17.4)

Fonte: SOBRAL, M. P.; LACHOWSKI K.M.; ROSSI, W.; BRAGA, S. R. M.; RAMALHO, K. M. Effect of Nd:YAG Laser and Acidulated Phosphate Fluoride on Bovine and Human Enamel Submitted to Erosion/Abrasion or Erosion Only: An *in Vitro* Preliminary Study. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 27, Number 5, 2009

Em resumo, o que pode se verificar é que a ação de *laser* somado à aplicação do APF é apresentada com melhoras em termos de redução da erosão dentária, com significância estatística comprovada em testes robustos como ANOVA e Turkey. [3] Logo, pode ser a vir uma técnica preventiva promissora à erosão em testes *in vitro*.

Logo, observa-se que diversas são as hipóteses sobre a possibilidade de sucesso na aplicação de laser para uso clínico, mais especificamente na odontologia e, como de interesse do presente estudo, para erosão dentária. Pode-se verificar igualmente que os estudos mostram viáveis tais hipóteses, demonstrando resultados positivos no uso de diferentes laser, assim como em sua associação com outras técnicas.

Todavia, é necessário considerar a importância de desenvolvimento nesta área, incluindo o estudo da metodologia mais adequada para determinado tratamento, o que diz respeito igualmente ao tipo de laser a ser utilizado. E, portanto justifica-se o intuito do estudo em questão, considerando o laser Er,Cr:YSGG, devido às suas características, possivelmente adequado para atingir o objetivo inicial.

5 Metodologia

5.1 Preparação de amostras

Para a realização deste estudo, utilizou-se 25 dentes incisivos inferiores bovinos, os quais foram obtidos em frigoríficos após aprovação do presente projeto pela Comissão de Ética em Uso Animal do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

Após cessão, os dentes foram lavados com água corrente e detergente aniônico, e seus indutos orgânicos removidos com raspagem ultrassônica e profilaxia com pedrapomes e água, com escova tipo Robinson® em baixa rotação. As amostras foram, então, mantidas em ambiente úmido (algodão estéril umedecido com água deionizada) sob refrigeração a +4^o C até o momento dos experimentos.

Para o preparo das amostras, as coroas foram separadas das raízes dos dentes por meio de seccionamento com disco diamantado sob refrigeração (Accutom-5, Spindle speed 300-3000pm; Struers, UK). Em seguida, as raízes (Figura 18(a)) foram individualmente aderidas, por meio de cera pegajosa odontológica, a placas acrílicas (Figura 18(b)) de 5 x 5 cm. As amostras, já aderidas, foram levadas a uma cortadeira metalográfica de precisão (Figura 19) para a realização de um corte transversal de 6mm de espessura, os quais foram posteriormente aderidos a novas placas acrílicas (com a superfície cortada voltada paralelamente à placa) (Figura 20).

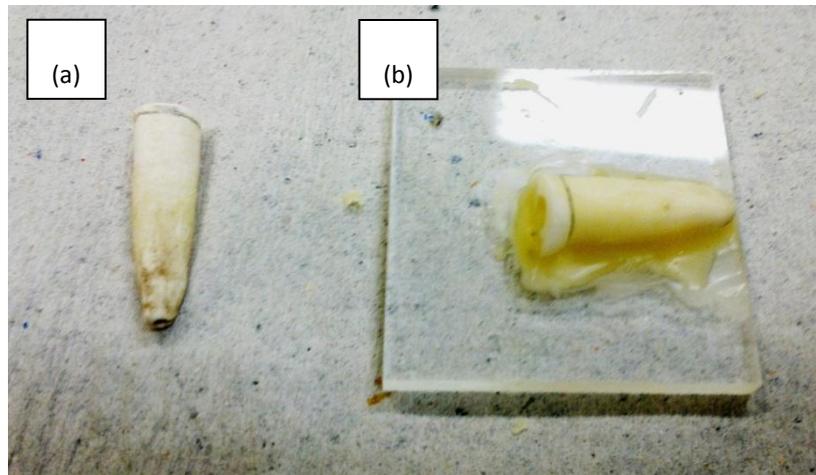


Figura 18: Amostras de raízes de dentes incisivos inferiores bovinos com indutos orgânicos removidos (a) e aderidos à placa acrílica (b) para posterior seccionamento.

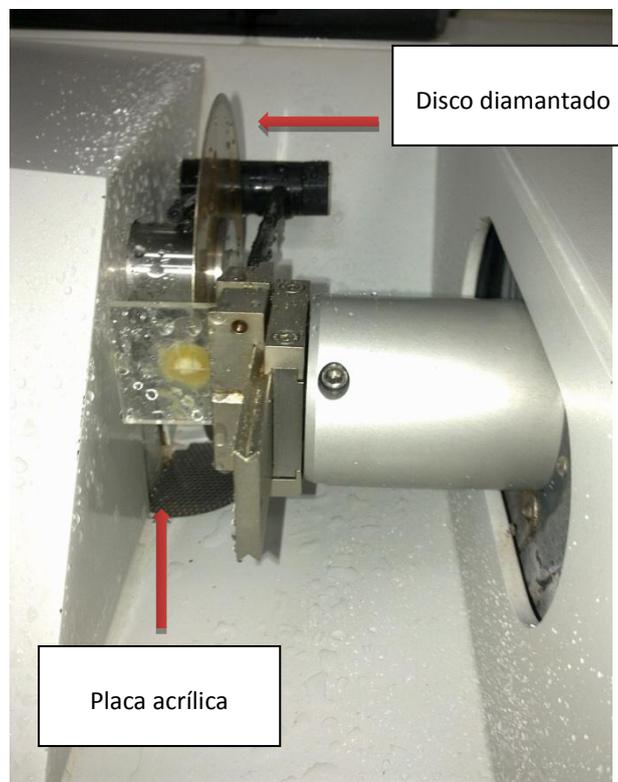


Figura 19: Amostra em processo de corte no microcortador Accutom-5 (Struers, UK).



Figura 20: Amostra cortada transversalmente com espessura de 6mm, aderida à placa acrílica para a confecção de novos cortes.

As amostras foram, então, submetidas a novos cortes, conforme esquema ilustrado na Figura 21, para a obtenção de blocos retangulares de dimensões padronizadas. Assim, de cada amostra inicial originou-se duas amostras de 4mm de comprimento por 6mm de espessura.

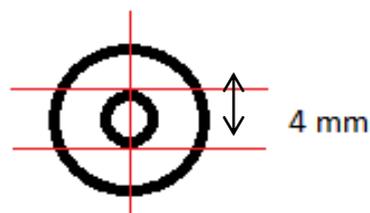


Figura 21: Esquema de corte das amostras pré-cortadas transversalmente.

Deste modo, da superfície radicular de cada dente, foram obtidos dois blocos de 4 x 4 x 6 mm de dentina radicular, originando-se, ao total, a obtenção de 50 blocos.

As superfícies de tais blocos foram planificadas com lixas de granulação 400, 600 e 1200 (Carbimed Paper Discs, 30-5108-320, Buehler, IL, USA) e polidas com pasta

de polimento de diamante com granulação de 1 μm (METADI Diamond suspension, Color Polishing Water-spray base 40-6530, Buehler, IL, USA) e disco de papel feltro auto-adesivo (Polishing Cloth, METADI, Buehler 40-7618, IL, USA) em lixadeira-politriz EcoMet® 250/300 – Buehler, USA). Este procedimento resultou na remoção de uma camada de 100 μm de superfície de dentina, aproximadamente.



Figura 22: Lixadeira-politriz empregada no presente estudo.

Após a planificação e polimento dos blocos de dentina, as faces laterais e posteriores dos mesmos foram recobertas com duas camadas de esmalte ácido-resistente (esmalte de unhas) de cores fortes, facilitando a visualização de eventuais bolhas na aplicação do mesmo.

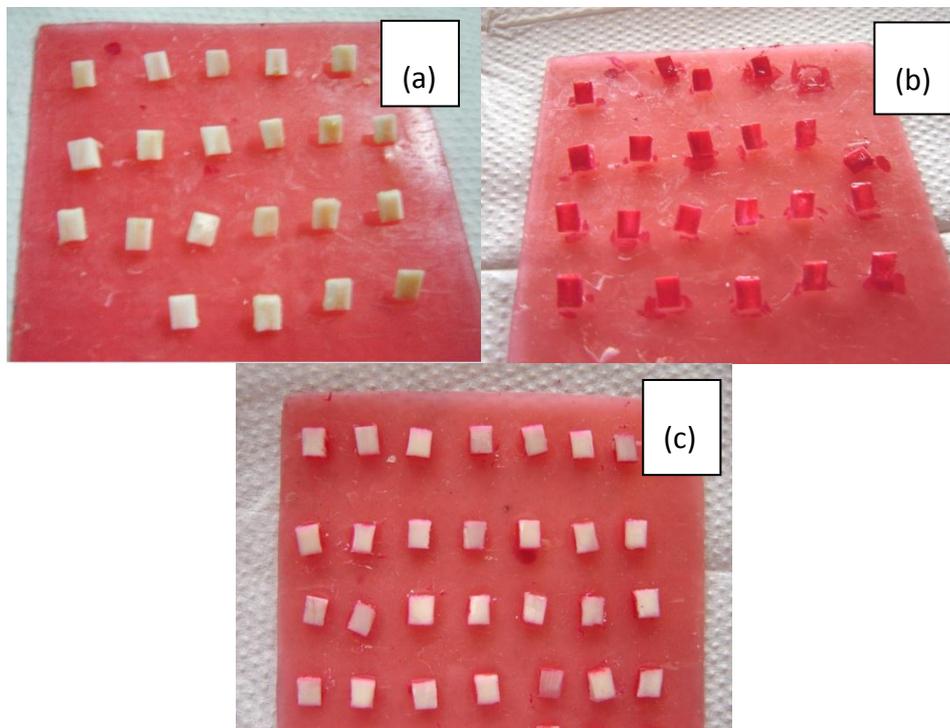


Figura 23: Blocos de dentina obtidos no presente estudo nas seguintes condições: (a) in natura (após o corte e lixamento), (b) esmaltadas (vista posterior da amostra) e (c) preparadas para a aplicação dos tratamentos (pré-polimento)-vista frontal da amostra.

5.2 Tratamentos

As amostras assim obtidas foram aleatoriamente distribuídas em 5 grupos de tratamento de 10 amostras cada, a saber:

- **Grupo 1:** amostras sem tratamento (grupo controle negativo);
- **Grupo 2:** amostras com aplicação tópica de flúor fosfato acidulado - FFA (grupo controle positivo);
- **Grupo 3:** amostras irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG;

- **Grupo 4:** amostras irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG seguida da aplicação de FFA.
- **Grupo 5:** amostras com aplicação de FFA, seguidas pela irradiação com laser de Er,Cr:YSGG.

Nos grupos 2, 4 e 5, empregou-se gel de flúor fosfato acidulado (Flúor Gel, Dentsply, Brasil, 1,23% de flúor, pH 3,6 – 3,9), o qual permaneceu sobre as superfícies das amostras durante 4 minutos. Decorrido este tempo, o gel foi removido com o auxílio de um cotonete e os blocos lavados com água destilada e deionizada por 30 segundos e, posteriormente, secos com papel absorvente (Figura 24 e Figura 25).



Figura 24 – Flúor Gel, Dentsply, Brasil.

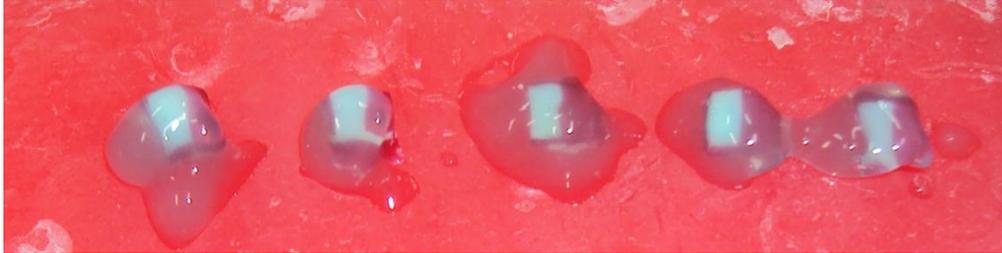


Figura 25 - Amostras durante aplicação de gel de flúor fosfato acidulado.

Nos grupos 3, 4 e 5 as amostras foram irradiadas com laser Er,Cr:YSGG, cuja emissão se dá por meio de uma fibra óptica flexível de 750 μm de diâmetro terminada por uma ponta de cristal de safira (Millenium, Biolase Technology, Inc., San Clemente, C.A.). Este laser emite no comprimento de onda de 2,78 μm , com pulsos variando entre 140 a 200 μs , 20 Hz de taxa de repetição e potência que varia de 0 a 6 W. O equipamento utilizado pertence ao Laboratório de Biofotônica, do Centro de Lasers e Aplicações do IPEN/CNEN-SP (Figura 26 e Figura 27).



Figura 26: Laser de Er,Cr:YSGG empregado no presente estudo.



Figura 27: Peça de mão e ponta de safira de 750 micrometros de diâmetro do Laser de Er,Cr:YSGG.

Para as irradiações do presente estudo, utilizou-se a ponta tipo S75, de diâmetro de 750 μm e comprimento de 6mm. Para a irradiação das amostras, as mesmas foram posicionadas individualmente em um deslocador micrométrico automático de passo X-Y-Z (ESP 300, Newport, CA, USA), de forma que as amostras pudessem ser deslocadas durante as irradiações com velocidade padronizada de 10,3 mm/s e distâncias entre linhas padronizadas de 400 μm , evitando-se os eventuais “espaços” entre os pulsos da irradiação laser (Tabela 4 e Figura).

Tabela 4: Parâmetros empregados para cálculo da velocidade de deslocamento das irradiações, evitando-se a sobreposição de pulsos.

Parâmetro	Cálculo	Valor
Diâmetro da ponta S75	Fornecido pelo fabricante	750 μm
Diâmetro útil	$r \cdot 1 - \frac{1}{e^2}$	648 μm
80% do diâmetro útil	0,8 . 648 μm	519 μm
Valor da velocidade ajustada	20 Hz . 0,519 mm	10,376 mm/s

Durante as irradiações, a fibra óptica foi posicionada e mantida estável em suportes ópticos (Figura 29). Em todos os grupos irradiados, os parâmetros do laser foram: densidade de energia de 2,5 J/cm², potência média de 0,25W, energia por pulso de 12,5 mJ. Todas as irradiações foram realizadas sem refrigeração, sob a forma de varredura.[4] No momento das irradiações, verificou-se a energia emitida por um medidor de energia (FieldMaster, Coherent, USA), a cada 5 amostras irradiadas (Figura 30).



Figura 28: Deslocador micrométrico automático de passo X-Y-Z utilizado no presente estudo



Figura29: Peça de mão do *laser* posicionada em suporte óptico para irradiação das amostras posicionadas sobre deslocador micrométrico automático.



Figura 30: Aferição da energia por pulso com medidor de potência e energia.

5.3 A indução de lesão de erosão (Desafio Ácido)

Após a concretização dos tratamentos listados no tópico 5.2, realizou-se indução de lesão de erosão por meio de ciclo erosivo com duração de 15 dias, de acordo com o

protocolo de Magalhães *et al.* (2008) [35]. Para tal, cada grupo de amostra foi submerso em 300 mL (30 mL/amostra) de refrigerante Sprite Light® (ácido cítrico, Coca-Cola Co., Brasil; pH = 2,87), em temperatura ambiente, por 1 minuto, seguida da imersão em 300 mL (30 mL/amostra) de saliva artificial por 59 minutos. Este procedimento foi repetido 4 vezes ao dia e as amostras mantidas em saliva artificial durante as demais 20 horas de cada dia (Figura 31).

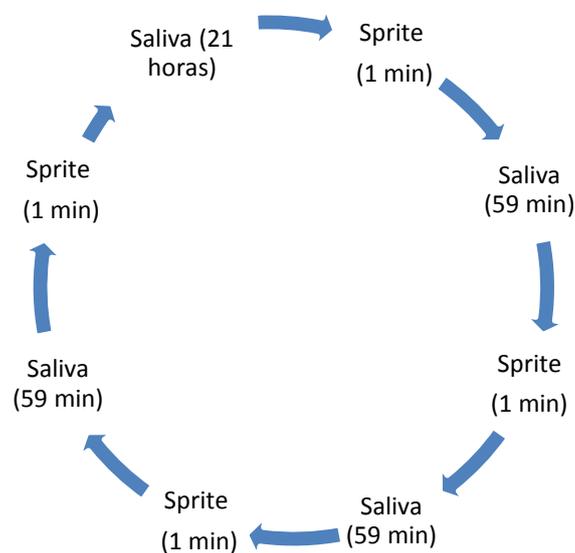


Figura 31: Esquema da ciclagem de erosão empregada no presente trabalho.

A saliva artificial utilizada no experimento apresenta em sua composição 1,5 mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,9 mM de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150 mM de KCl, 0,03 ppm de F^- , em tampão Tris 0,1M, com pH 7,0 .

Durante toda a ciclagem de erosão, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente controlada (25° C) por estufa, exceto nos momentos das trocas das soluções [35]. Entre cada troca de soluções, as amostras foram lavadas abundantemente com

água destilada e deionizada por 30 segundos e, após, secas com papel absorvente. Conforme o protocolo de Magalhães *et al.* (2008) [35], visando-se evitar a saturação iônica de cálcio, fósforo e flúor, a saliva foi trocada diariamente, enquanto que o refrigerante Sprite foi trocado de 5 em 5 dias.

Após o térmico da ciclagem, as amostras foram lavadas com água destilada e dionizada, secas com papel absorvente e mantidas em ambiente úmido sob refrigeração até a análise composicional final.

5.4 Análise composicional das lesões

A análise composicional dos efeitos ocasionados na dentina, devido à aplicação dos diferentes tratamentos utilizados no estudo, assim como do desafio erosivo sobre as amostras, foi avaliada por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR.

A análise das amostras do presente trabalho foram realizadas em 4 momentos distintos: imediatamente após os tratamentos (inicial), após 5 dias de ciclagem erosiva após 10 dias de ciclagem erosiva e após 15 dias de ciclagem erosiva.

A espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula. Através da construção de um gráfico a partir do registro da quantidade de energia absorvida, podem-se identificar as substâncias constituintes, mesmo as mais complexas. Com esta técnica de análise, tornou-se possível a monitoração da composição química da matriz mineral das amostras antes e após a irradiação do *laser*; essa monitoração foi conduzida mais precisamente com a análise qualitativa dos radicais de fosfato, carbonato e amidas presentes nos diferentes substratos. [2]

A técnica de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) permite determinar espectros de absorção na região do infravermelho (2,5 μm e 25 μm). Nesse trabalho foram conduzidos experimentos com a técnica no modo de reflexão atenuada (ATR-FTIR); essa forma de análise permite analisar o tecido restrito à superfície, maximizando a análise do tecido alterado pelos tratamentos, o que não é possível com outras técnicas. [33] Foi utilizado o espectrômetro FTIR 610 (Varian Inc.), pertencente à Central Multiusuário da UFABC. Neste, acoplou-se um acessório de reflexão total atenuada (ATR, com cristal de Seleneto de Zinco). No momento da aquisição dos dados, foram feitos 80 scans de cada amostra, na resolução de 4 cm^{-1} , sendo a tomada de background realizada a cada 5 amostras. A faixa dos espectros coletados variou entre 500 a 4000 cm^{-1} . O registro e a conversão dos espectros de absorção foi realizada através do programa específico do espectrômetro (Varian Resolutions Pro) (Figura 32).



Figura32: Equipamento de FTIR empregado neste estudo (Varian Inc.), da CEM-UFABC.

Após a obtenção dos dados, foi realizada uma análise qualitativa descritiva identificando as mudanças químicas ocorridas após as irradiações por meio da

identificação de grupos funcionais específicos do tecido dentinário (análise das bandas de absorção), assim como realizada uma comparação semi-quantitativa entre os espectros obtidos de cada grupo experimental, por meio da identificação de mudanças relativas entre as áreas das diferentes bandas de absorção [2][33]: entre 800cm^{-1} e 887cm^{-1} para ν_2 carbonato, entre 887cm^{-1} e 1181cm^{-1} para ν_3 fosfato; entre 1181cm^{-1} e 1296cm^{-1} para amida III; entre 1300cm^{-1} e 1510cm^{-1} igualmente para carbonato (ν_3 e ν_4); entre 1510cm^{-1} e 1580cm^{-1} amida II e, entre 1593cm^{-1} e 1720cm^{-1} para amida I (Tabela 5)(Figura 33). Para o cálculo das áreas sob as bandas, foi efetuada a integração por meio do software OriginPro (versão 8.0 – OriginLab Corp, Northampton, MA, EUA), após o traçado do *baseline*.

Tabela 5: Bandas de absorção analisadas no presente estudo.

Substância de interesse	Região analisada (cm^{-1})	Maior pico de absorção (cm^{-1})
ν_2 carbonato	800-887	871
ν_3 fosfato	887-1181	1012
amida III	1181-1296	1241
ν_3 e ν_4 carbonato	1300-1510	1409
amida II e carbonato	1510-1580	1556
amida I	1593-1720	1650

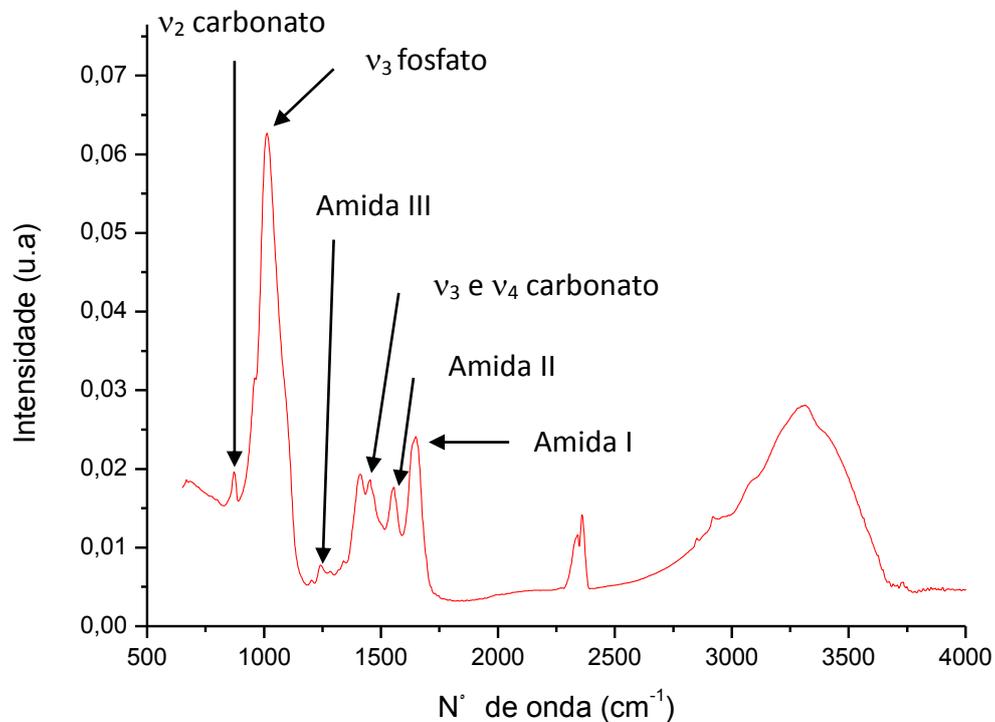


Figura33: Espectro representativo de amostra de dentina radicular bovina sadia, onde são evidenciadas as principais bandas de absorção consideradas para a análise semi-quantitativa do presente estudo.

Para fins de comparação quantitativa entre os grupos, inicialmente todos os compostos foram normalizados pela banda ν_3 do fosfato ($887-1181\text{ cm}^{-1}$), de acordo com o preconizado pela literatura [2], considerando-se que esta foi a única região que não sofreu alterações devido aos tratamentos propostos. Contudo, após a submissão das amostras ao desafio erosivo, observou-se que todas as bandas de absorção sofreram alterações, o que impossibilitou a normalização por apenas uma (1) região. Desta maneira, de forma a complementar as análises, comparou-se o conteúdo de fosfato frente aos diferentes compostos, de modo a observar também o comportamento do fosfato frente ao desafio proposto.

6 Resultados e Discussão

6.1 Análise das mudanças composicionais promovidas pelos tratamentos propostos

O gráfico a seguir (Figura 34) mostra a média dos espectros das amostras de dentina dos diferentes grupos experimentais do presente estudo pré-indução de lesão erosiva, quando objetivou-se avaliar os efeitos dos diferentes tratamentos propostos na superfície da dentina radicular. Os espectros apresentados representam todas as bandas de absorção consideradas para o presente estudo, isto é, de 650 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} .

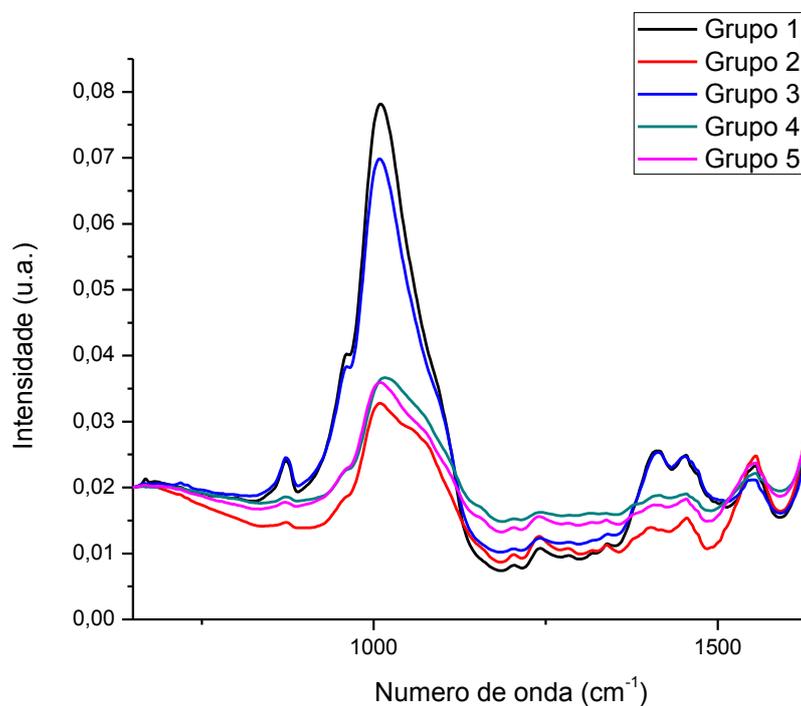


Figura 34: Média dos espectros de reflexão por infravermelho obtidos, utilizando-se a técnica de ATR-FTIR, de amostras de dentina radicular bovina submetidas aos diferentes tratamentos propostos, pré-desafio erosivo, considerando-se a região compreendida entre 650 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .

Ao observar apenas este gráfico, pode-se verificar uma redução de intensidade significativa da banda de absorção relativa à ao grupo ν_3 fosfato dos grupos que tiveram aplicação tópica de FFA, independentemente de haver ou não irradiação laser. Em contrapartida, observa-se que a intensidade das amidas I, II e III, assim como das vibrações ν_3 e ν_4 carbonato, variaram entre si (Figura 35), de tal forma que houve um decréscimo na intensidade das bandas referentes ao carbonato ($1300 - 1510 \text{ cm}^{-1}$) nos grupos que tiveram aplicação tópica de flúor em comparação com aqueles que não tiveram, assim como provável acréscimo da intensidade das bandas referentes às amidas I e II (setas).

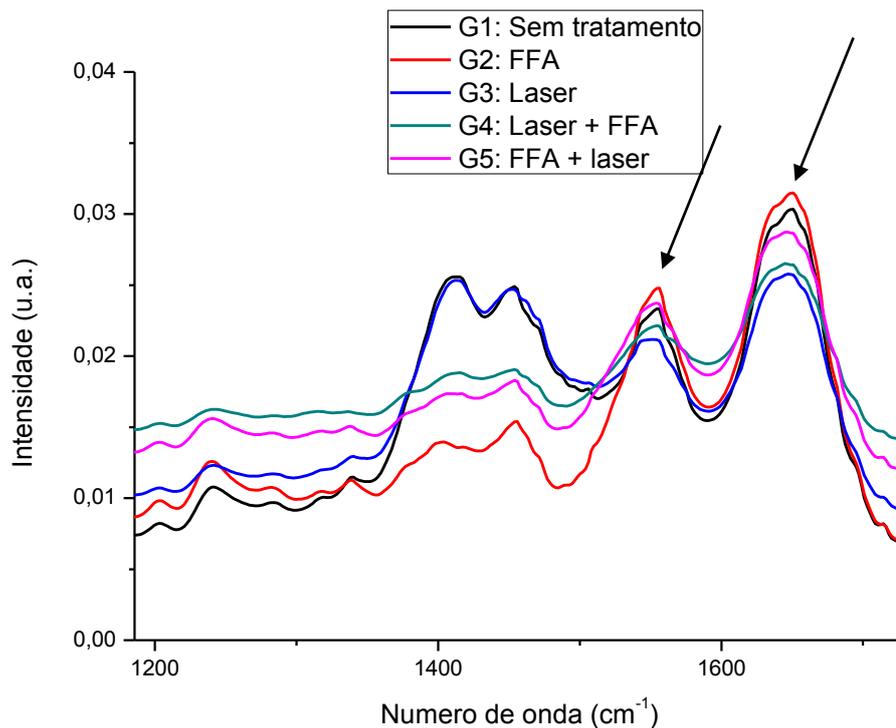


Figura 35: Média dos espectros de reflexão por infravermelho obtidos, utilizando-se a técnica de ATR-FTIR, de amostras de dentina radicular bovina submetidas aos diferentes tratamentos propostos, pré-desafio erosivo, considerando-se a região compreendida entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} .

O flúor fosfato acidulado (FFA) tem sido reportado como um agente cariostático amplamente efetivo para prevenção da desmineralização do esmalte e da dentina e, por isso, pode ser aplicado para prevenir ou paralisar a progressão das lesões de cárie ou erosão [8]. Seu mecanismo de ação deve-se à formação de cristais de fluoreto de cálcio (CaF_2) sobre a superfície tratada, cuja liberação de fluoreto (F^-) ocorre de forma lenta. Assim, o F^- liberado atua na diminuição do pH crítico para que ocorra a desmineralização e favorece a remineralização, interagindo com a hidroxiapatita carbonatada para formação de hidroxiapatita fluoretada ou, eventualmente, fluorapatita. [36]

Para otimizar sua interação com os cristais de hidroxiapatita, melhor eficiência foi demonstrada nos agentes de fórmula acidulada com ácido fosfórico, o qual dissolve levemente o esmalte superficial e disponibiliza maior quantidade de cálcio para formação de fluoreto de cálcio. [37] Contudo, são dissolvidos poucos micrometros de esmalte ou dentina em decorrência da aplicação de FFA. Desta maneira, supõe-se que a diminuição da intensidade de fosfato nas amostras tratadas com APF seja oriundo de uma desmineralização parcial da dentina pelo ácido fosfórico. Mais trabalhos são necessários, contudo, para se confirmar tal hipótese.

Nas figuras a seguir observa-se a comparação entre as áreas sob as bandas de carbonato, após normalização pela banda do fosfato, nos diferentes grupos experimentais. Observa-se que, para o ν_2 carbonato, que parece haver uma diminuição da quantidade relativa deste conteúdo nos grupos tratados com FFA, o que pode ser também verificado nos espectros obtidos (Figura 34). Ao contrário do que se esperava, a irradiação laser não interferiu no conteúdo de carbonato da dentina, o que pode ser explicado pela pequena densidade de energia empregada no presente estudo.

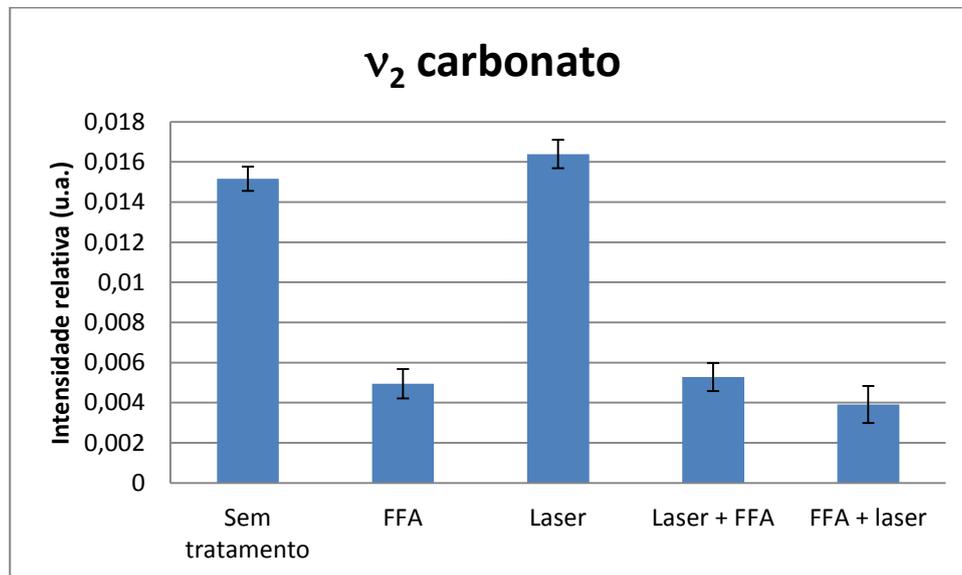


Figura 36: Áreas sob as bandas de absorção do ν_2 carbonato, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes grupos experimentais. As barras evidenciam erro-padrão.

Para as bandas de absorção referentes às vibrações ν_3 e ν_4 carbonato, observa-se, pela análise das intensidades relativas destas bandas, que não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais (Figura 37). Considerando as diferenças existentes nas intensidades das bandas de fosfato, infere-se que ambos os tratamentos com FFA ou laser não influenciaram os conteúdos relativos destes componentes.

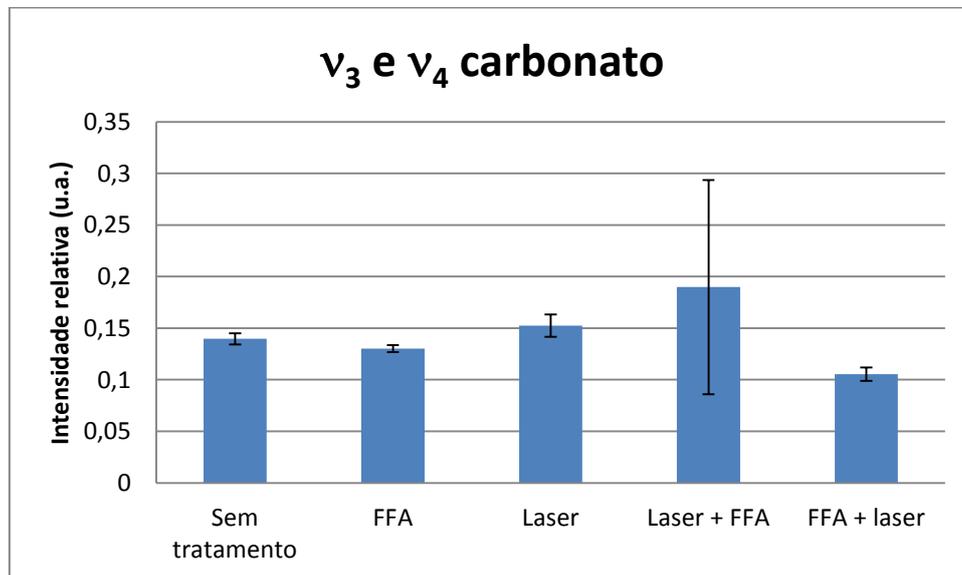


Figura 37: Áreas sob as bandas de absorção do ν_3 e do ν_4 carbonato, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes grupos experimentais. As barras evidenciam erro-padrão.

As figuras abaixo evidenciam a comparação entre as áreas sob as bandas de amida I, amida II e amida III, após normalização pela banda do fosfato, nos diferentes grupos experimentais. Nota-se que a aplicação de FFA promoveu um aumento significativo no conteúdo de amida I, II e III em comparação ao grupo sem tratamento, e que a irradiação laser isoladamente promoveu a diminuição da quantidade relativa destes conteúdos. Contudo, a associação da irradiação laser com o FFA promove diminuição do conteúdo destes componentes quando comparado com o grupo controle positivo, isto é, FFA.

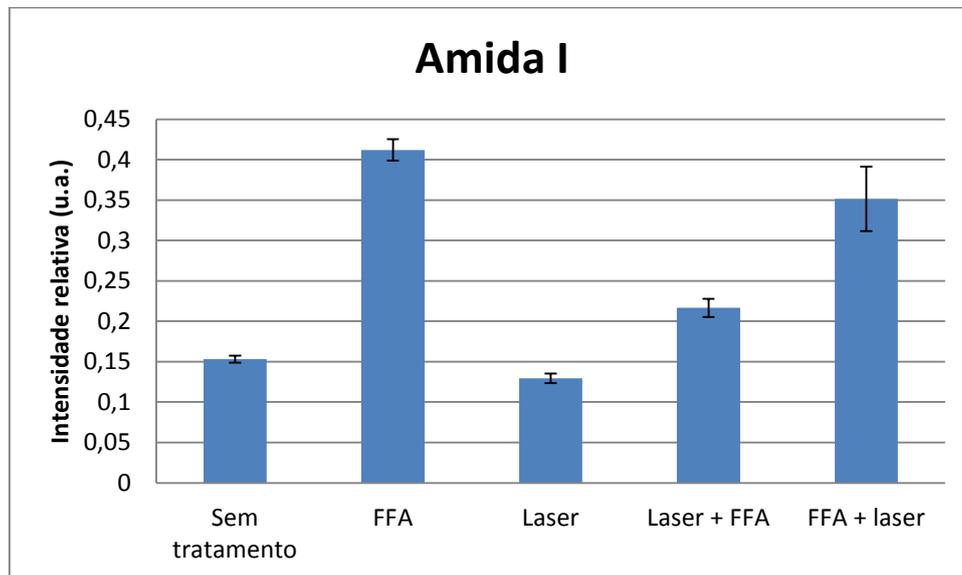


Figura 38: Áreas sob as bandas de absorção da amida I, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes grupos experimentais. As barras evidenciam erro-padrão.

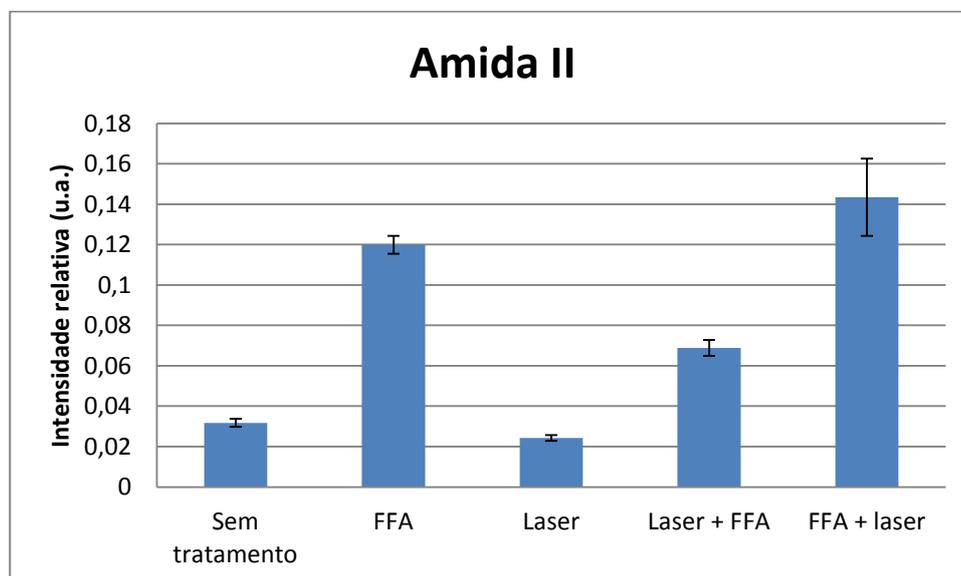


Figura 39: Áreas sob as bandas de absorção da amida II, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes grupos experimentais. As barras evidenciam erro-padrão.

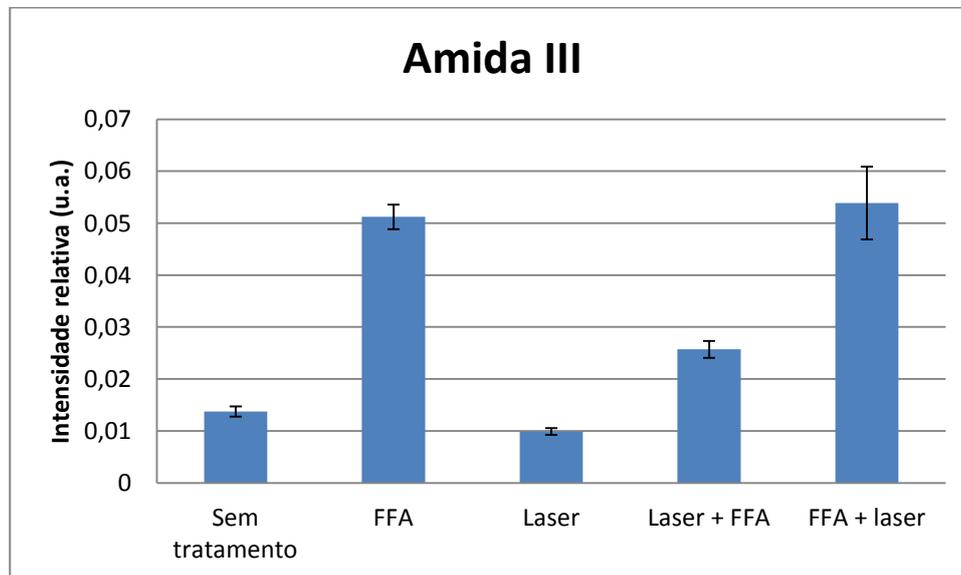


Figura 40: Áreas sob as bandas de absorção da amida III, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes grupos experimentais. As barras evidenciam erro-padrão.

Na Figura 41, observa-se o espectro de absorção do gel de FFA empregado no presente estudo. Para a tomada deste espectro, aplicou-se uma camada de gel sobre o cristal de ATR e deixou-se secar em estufa por, aproximadamente, 10 minutos, até se obter a retirada de parte da água. Pode-se observar a existência de várias bandas de absorção na região compreendida entre 1000 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} , com um pico de maior intensidade em 1556 cm^{-1} (seta), coincidente com o pico de amida II e carbonato da dentina. Estes picos de absorção, devidos principalmente ao espessante do gel empregado (fluoreto de sódio - com concentração de 1,23% de fluoreto, ácido fosfórico, ácido fluorídrico, sacarina sódica, celulose qsp 100, propilenoglicol, aroma, corante e água deionizada), podem interferir na visualização dos efeitos promovidos, pela irradiação laser ou pelo desafio erosivo, na dentina radicular.

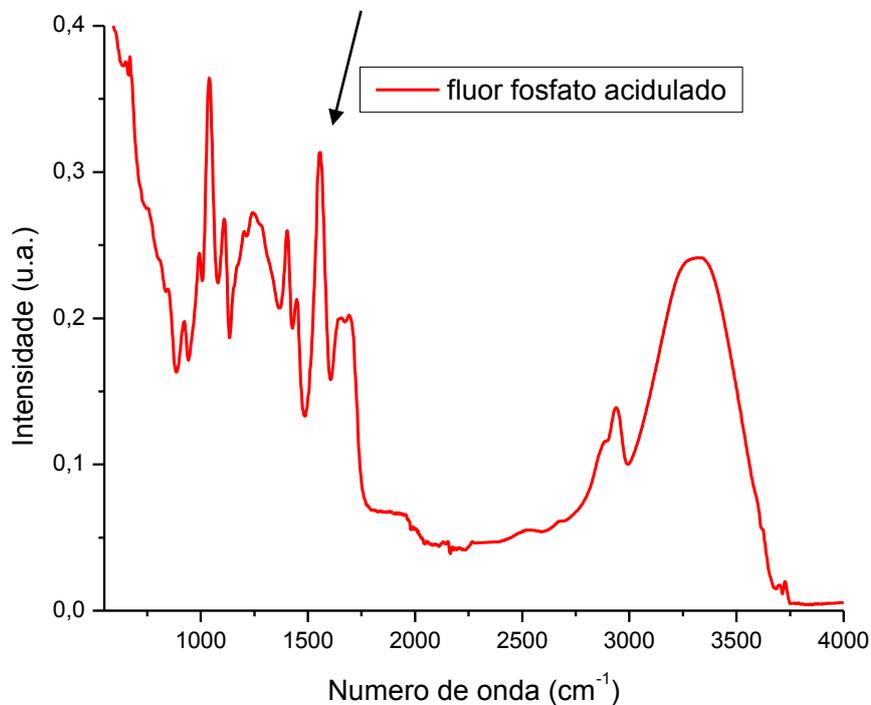


Figura 41: Espectro de reflexão no infravermelho padrão do gel de flúor fosfato acidulado comercial utilizado neste trabalho. Espectro retirado no equipamento ATR-FTIR Thermo Nicolet (com cristal de diamante), pertencente ao IPEN/CNEN-SP.

Embora não tenha promovido modificações na estrutura de carbonato da dentina, a irradiação laser promoveu diminuição significativa do conteúdo orgânico da mesma, representado pelas amidas I, II e III. Tal fenômeno tem justificativa devido à evaporação da matriz orgânica da dentina ocorrida durante a ação térmica promovida pela aplicação do laser sobre a amostra. Tais efeitos condizem com relatos da literatura, os quais afirmam alterações majoritárias à composição da matriz orgânica do tecido após irradiação de laser de érbio e seu consequente efeito de aquecimento na amostra. Tal estudo demonstra a degradação da matriz orgânica em torno de 325°C ou temperaturas superiores [2], o que sugere, devido aos resultados observados, a faixa

de temperatura atingida pelo presente estudo. Desta forma, pode-se afirmar a que o tratamento possibilita a prevenção desejada.

6.2 Análise das mudanças composicionais promovidas pelo desafio erosivo

Neste tópico será realizada a análise semi-quantitativa dividida por grupos e por dias pré e pós-desafio ácido, possibilitando maior detalhamento dos resultados, sendo o dia 1 referente ao posterior aos tratamentos e pré-desafio aos dias 2, 3 e 4 referentes aos dias 5, 10 e 15 após os tratamento e início da indução de lesão erosiva, respectivamente.

6.2.1.1 Grupo 1

A média dos espectros de absorção das amostras do grupo 1 analisadas no presente estudo é mostrado na Figura 42. Nesta figura, são indicadas as médias dos espectros obtido nos dias 1, 2, 3 e 4 para o grupo experimental em questão, na região compreendida entre 650 e 4000 cm^{-1} , sem tratamento dos dados (normalizações ou suavizações).

A Figura 43 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas analisadas no presente estudo, as quais encontram-se normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012cm^{-1}). A Figura 44 apresenta gráficos de barra e erro padrão referentes às áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho.

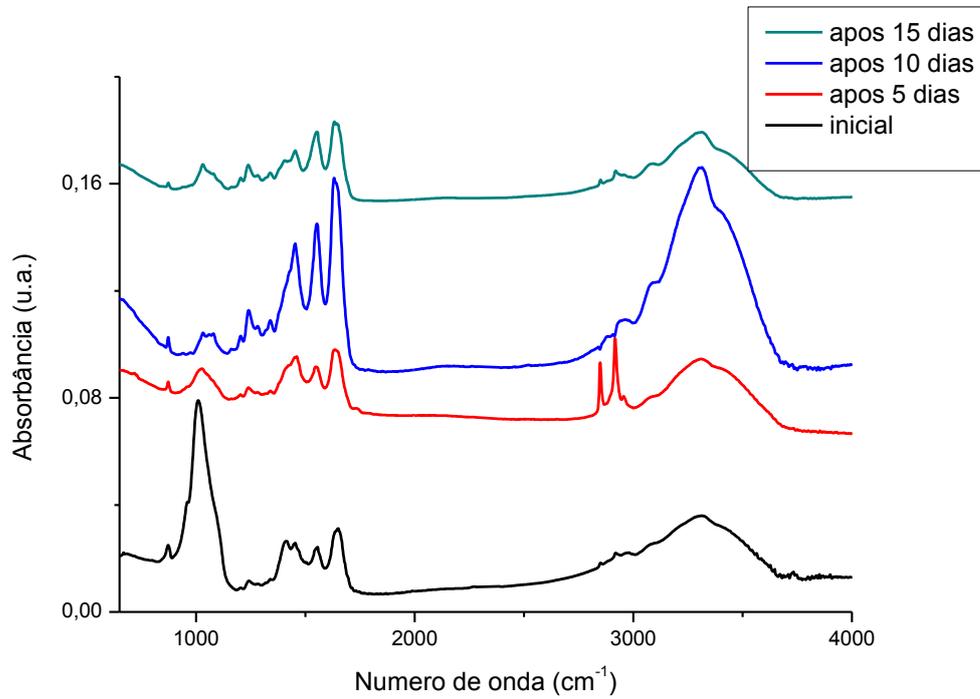


Figura 42: Média dos espectros de absorção das amostras referentes ao Grupo 1 (controle negativo), obtidos na região entre 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , para os diferentes dias de desafio erosivo.

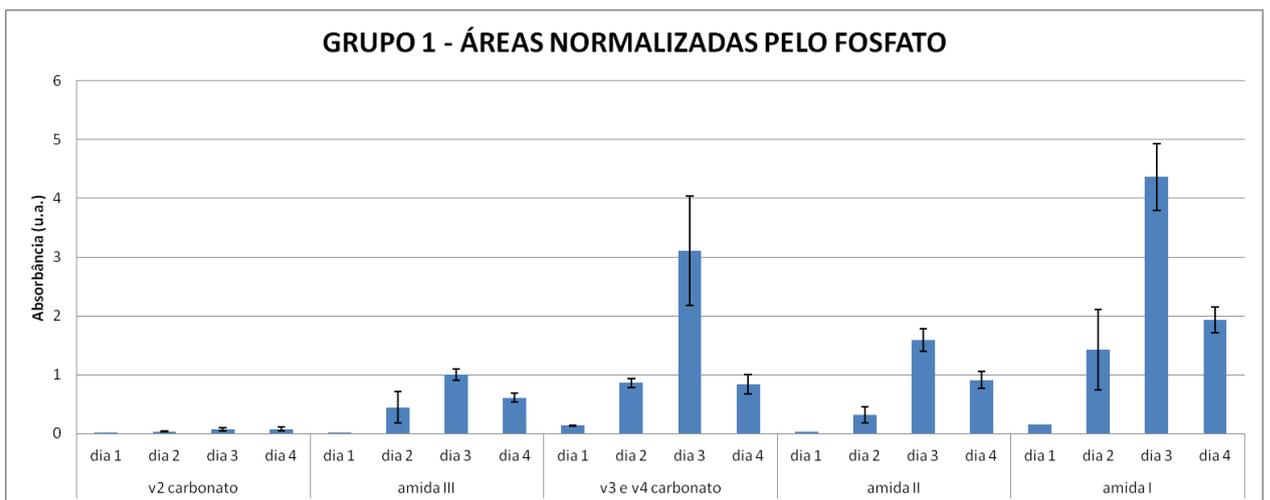


Figura 43: Áreas sob as bandas de absorção (ν_2 carbonato, amida III, ν_3 e ν_4 carbonato, amida II e amida I) do grupo 1, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

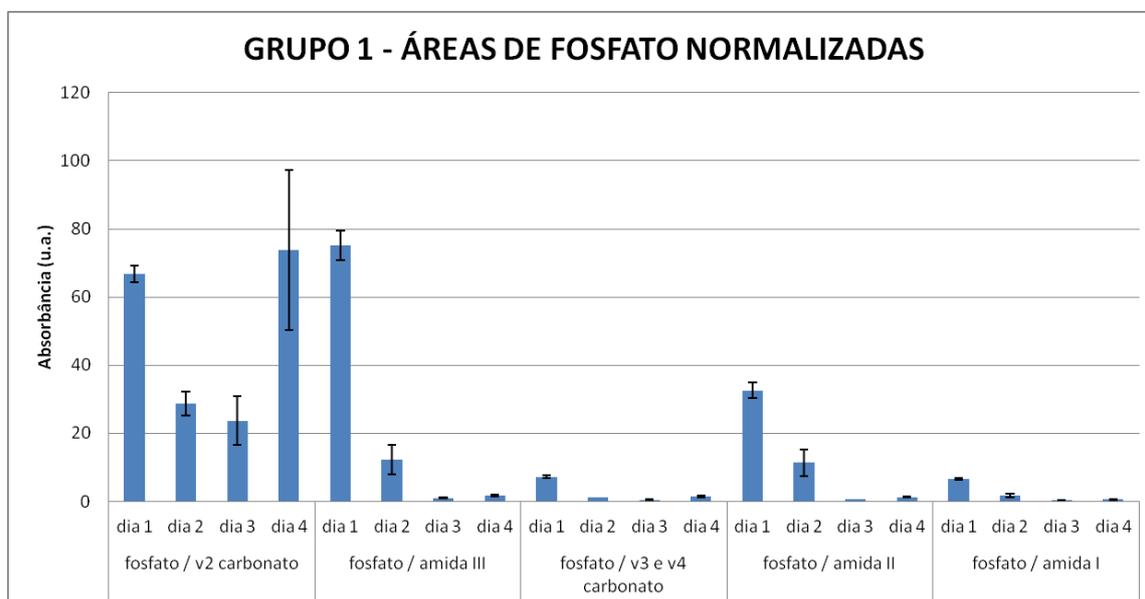


Figura 44: Áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho, para o grupo 1, nos diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

A partir da análise das figuras 42 e 44, observou-se um decréscimo da intensidade relativa do fosfato no decorrer do tempo de desafio erosivo. Tal fato ocorre devido à desmineralização (perda de mineral) acarretada pelo processo de erosão simulado, o que tem relação direta com o tempo de exposição ao ácido (representado, aqui, pelo ácido cítrico do refrigerante Sprite Zero). Como nos espectros de absorção (Figura 42) o mineral é representado pelos radicais fosfato é, portanto, esperada a perda de fosfato. Logo, cabe ressaltar que à medida que se prolonga o desafio erosivo maior será a perda do mineral, devido à ação do ácido sobre a amostra dentária. [8]

Em relação às bandas de vibração ν_2 do carbonato, não foram observadas diferenças consideráveis em seu conteúdo relativo, embora o aumento das intensidades das demais bandas de vibração analisadas no decorrer do desafio erosivo tenha sido verificado até o 10º dia após o início do desafio, sendo seu conteúdo

relativo diminuído no 15^o dia. A explicação para este fenômeno baseia-se na perda de material inorgânico (cristais de hidroxiapatita - fosfato) ocorrida pela desmineralização dental. A perda de mineral leva à maior exposição da matriz orgânica [38] (proteínas e água), a qual se encontra entremeada no conteúdo inorgânico, ocasionando maior porosidade ao tecido e menor dureza, fenômenos característicos dos estágios iniciais das lesões de erosão dental. Deste modo, a técnica espectroscópica é capaz de evidenciar aumento nos conteúdos relativos das amidas I, II e III de acordo com o tempo de exposição ao ácido (desafio erosivo), já que esta corresponde ao conteúdo orgânico da dentina.

Considerando que o carbonato pode estar relacionado tanto ao material orgânico quanto inorgânico da dentina, sugere-se que após 10 dias de desafio erosivo, a remoção de material tenha atingido inclusive o conteúdo orgânico da amostra, acarretando um fenômeno conhecido como cavitação, o que evidencia a redução deste constituinte no 15^o dia de análise. Durante o processo de cavitação, ambos os materiais orgânico e inorgânico são removidos, ocasionando perda da estrutura da dentina, fenômeno que já pode ser visto macroscopicamente no interior da cavidade oral. Esta ocorrência deve-se à incapacidade da ação remineralizadora salivar (neste caso saliva artificial) de superar os efeitos da desmineralização promovida pelo ácido contido na Sprite Zero [39]. A captura de imagens por microscopia eletrônica de varredura (MEV) possibilitaria a confirmação de tal hipótese.

6.2.1.2 Grupo 2

As médias dos espectros de absorção obtidos das amostras do grupo 2 analisadas no presente estudo é mostrado na Figura 45. Nesta figura, são indicadas as médias dos espectros obtidos nos dias 1, 2, 3 e 4 para o grupo experimental em

questão, na região compreendida entre 500 e 4000 cm^{-1} , sem tratamento dos dados (normalizações ou suavizações).

A Figura 46 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas analisadas no presente estudo, as quais encontram-se normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012cm^{-1}). A Figura 47 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho.

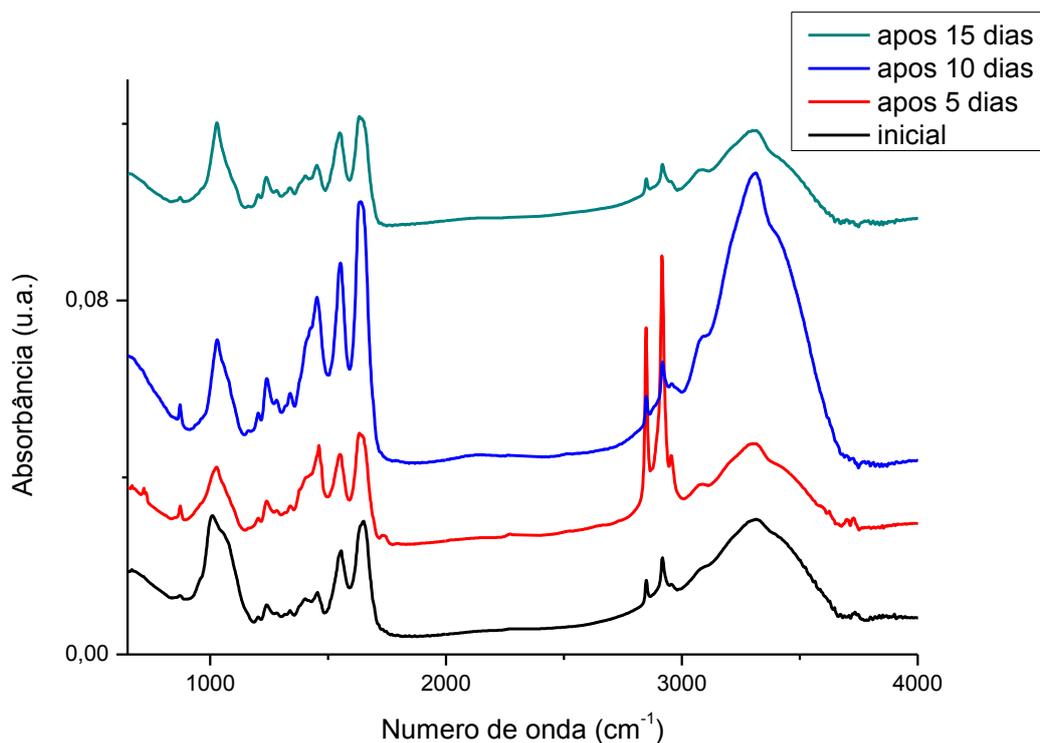


Figura 45: Média dos espectros de absorção das amostras referentes ao Grupo 2, obtidos na região entre 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , para os diferentes dias de desafio erosivo.

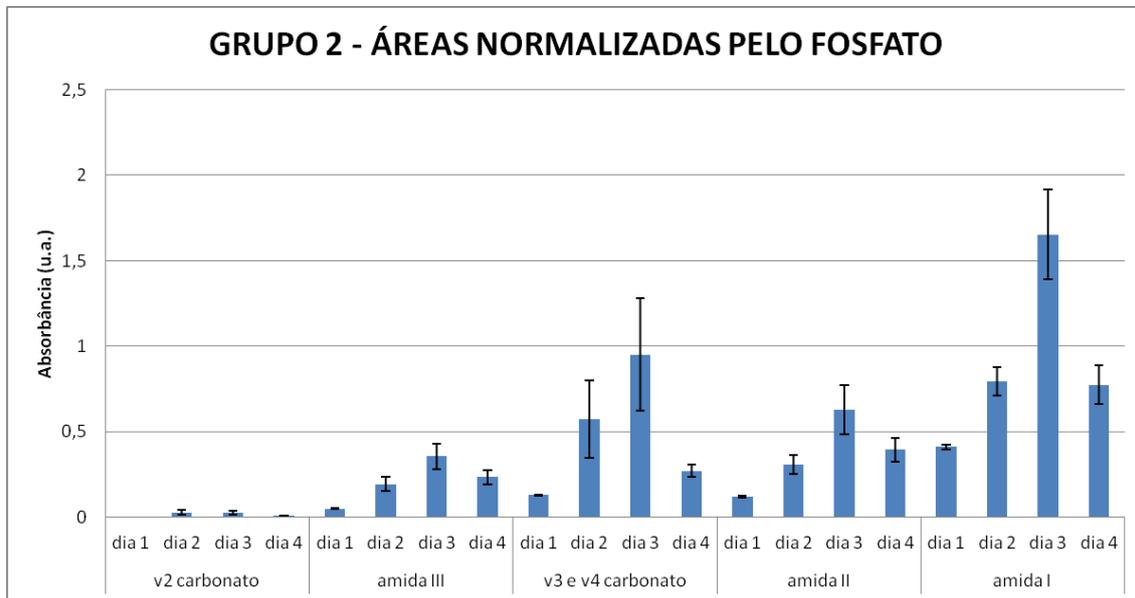


Figura 46: Áreas sob as bandas de absorção (ν_2 carbonato, amida III, ν_3 e ν_4 carbonato, amida II e amida I) do grupo 2, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

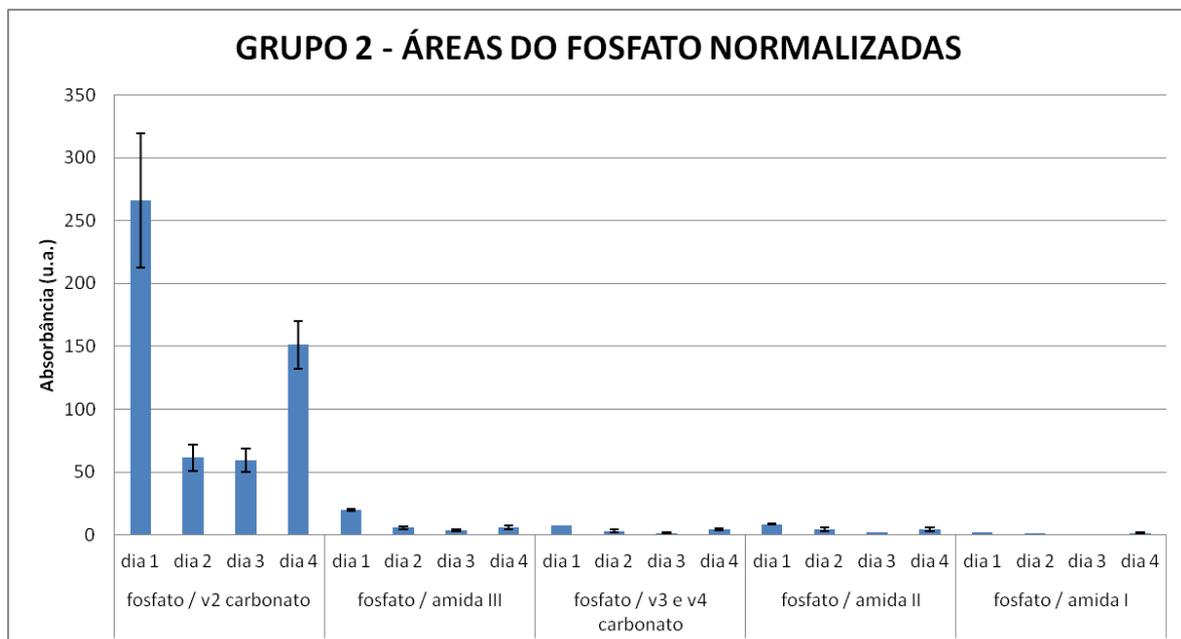


Figura 47: Áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012 cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho, para o grupo 2 nos diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

A análise espectral (Figura 45) evidencia menor perda estrutural do conteúdo de fosfato em comparação ao verificado no grupo 1, a qual foi ampliada no decorrer do desafio erosivo. Tal afirmação é indicada também pelas figuras 46 e 47.

O resultado acima exposto é explicado devido à ação do flúor sobre a dentina radicular. Segundo literatura previamente levantada, tal composto mostra-se de grande eficácia na prevenção de desmineralização dentária, devido a seus mecanismos de atuação, os quais tem a capacidade de inibir a desmineralização por meio de formação de cristais tipo fluoreto de cálcio (CaF_2), que se depositam sobre a superfície da amostra, além de possibilitar a potencialização da remineralização, pela formação de apatita fluoretada ou fluorapatita sobre as superfícies remineralizadas. [8] Deste modo, o fato evidenciado nos gráficos acima expostos embasa-se no efeito do flúor em inibir a ocorrência da perda mineral de forma intensa.

Em relação ao comportamento orgânico, entretanto, observou-se as mesmas características apresentadas e discutidas para o grupo 1, embora com menor perda de mineral, devido a ação do flúor explicada em parágrafo anterior. Logo, embora de maneira atenuada e com o mesmo mecanismo envolvido no grupo 1, ocorreu a desmineralização, expondo maior quantidade de material orgânico quando comparado com o início do desafio para tal grupo. A exposição da dentina tratada com FFA ao meio ácido propicia a maior exposição de conteúdo orgânico, o qual passou a ser removido após 15 dias de exposição.

A análise comparativa entre os grupos 1 e 2, em relação à perda mineral pode ser confirmada, posteriormente, por análise de microdureza.

6.2.1.3 Grupo 3

A média dos espectros de absorção obtidos das amostras do grupo 3 analisadas no presente estudo é mostrado na Figura 48. Nesta figura, são indicadas as médias dos espectros obtido nos dias 1, 2, 3 e 4 para o grupo experimental em questão, na região compreendida entre 500 e 4000 cm^{-1} , sem tratamento dos dados (normalizações ou suavizações).

A Figura 49 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas analisadas no presente estudo, as quais encontram-se normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012cm^{-1}). A Figura 50 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho.

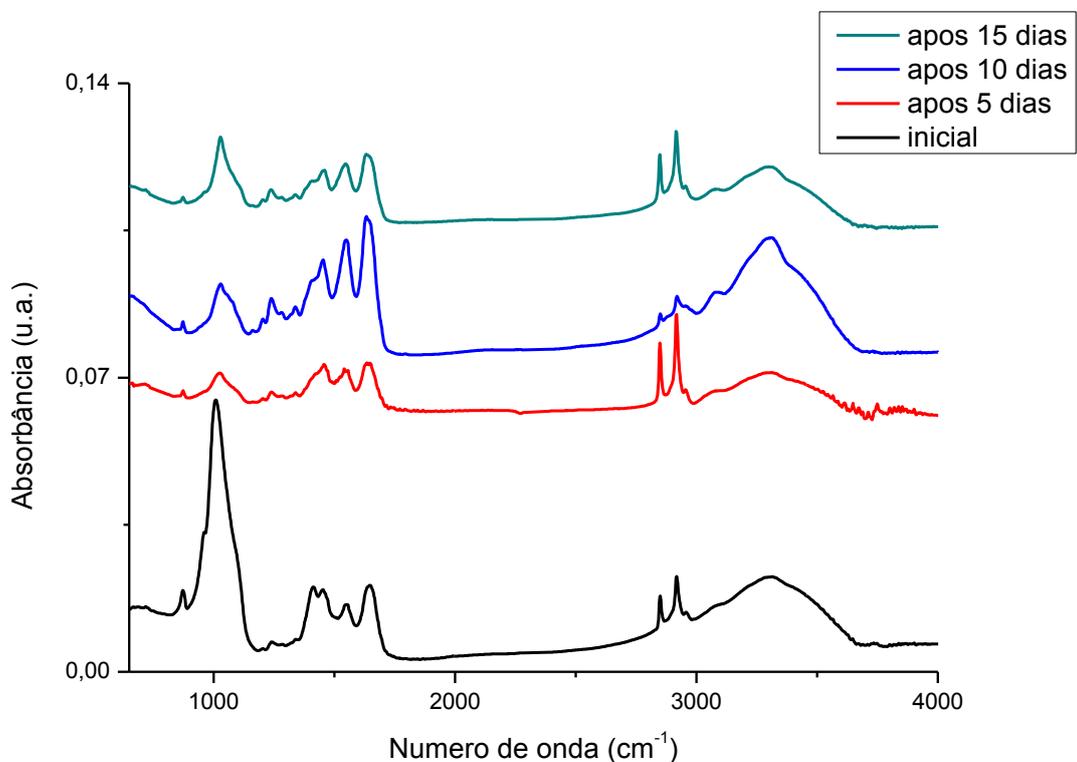


Figura 48: Média dos espectros de absorção das amostras referentes ao Grupo 3, obtidos na região entre 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , para os diferentes dias de desafio erosivo.

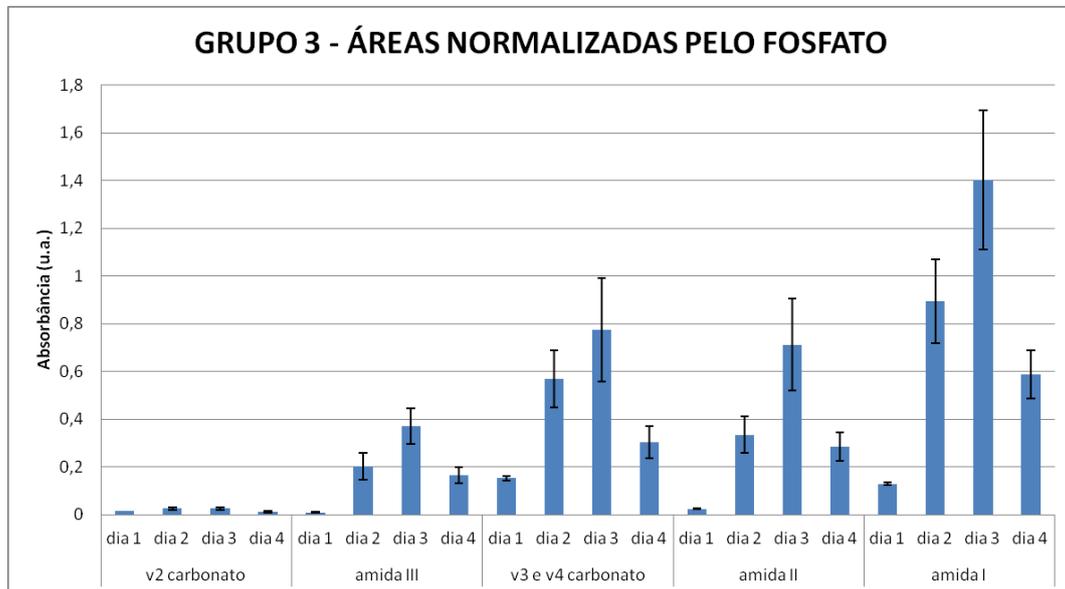


Figura 49: Áreas sob as bandas de absorção (ν_2 carbonato, amida III, ν_3 e ν_4 carbonato, amida II e amida I) do grupo 3, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

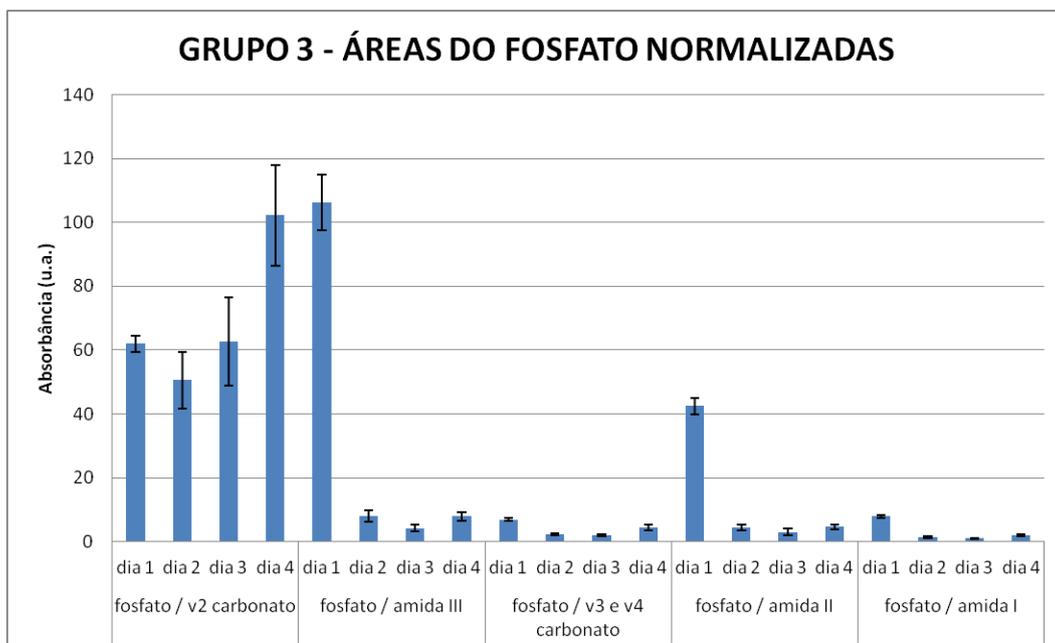


Figura 50: Áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012 cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho, para o grupo 3 nos diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

A análise das figuras 48 a 50 permite a verificação de perda de fosfato no decorrer do desafio erosivo. Tal perda mostra-se inferior a verificada no grupo 1, todavia superior à do grupo 2. Deste modo, é sugerida melhor eficiência do flúor na prevenção da perda mineral dentária, quando comparada ao mesmo efeito ocasionado pela ação da irradiação *laser*. Tal afirmação mostra-se condizente com o averiguado em literatura. [40][41]

Observa-se igualmente, na análise de tais figuras, a dinâmica do material orgânico semelhante ao observado para os grupos 1 e 2, com exceção do v_2 carbonato, o qual não apresentou mudanças estatisticamente significativas no gráfico da figura 47 (relação fosfato / v_2 carbonato). Considerando as perdas de fosfato para tal grupo, deduz-se que a perda de carbonato foi similar à perda de fosfato. Esta alteração composicional deve-se a irradiação laser, a qual promove uma grande perda de material orgânico e carbonato, como indicado em literatura. [42][43][44] Assim, houve uma perda inicial de carbonato durante a irradiação *laser*, somada à perda ocorrida durante a erosão.

6.2.1.4 Grupo 4

A média dos espectros de absorção obtidos das amostras do grupo 4 analisadas no presente estudo é mostrado na Figura 51. Nesta figura, são indicadas as médias dos espectros obtido nos dias 1, 2, 3 e 4 para o grupo experimental em questão, na região compreendida entre 500 e 4000 cm^{-1} , sem tratamento dos dados (normalizações ou suavizações).

A Figura 52 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas analisadas no presente estudo, as quais encontram-se normalizadas pela

banda de absorção do fosfato (1012cm^{-1}). A Figura 53 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho

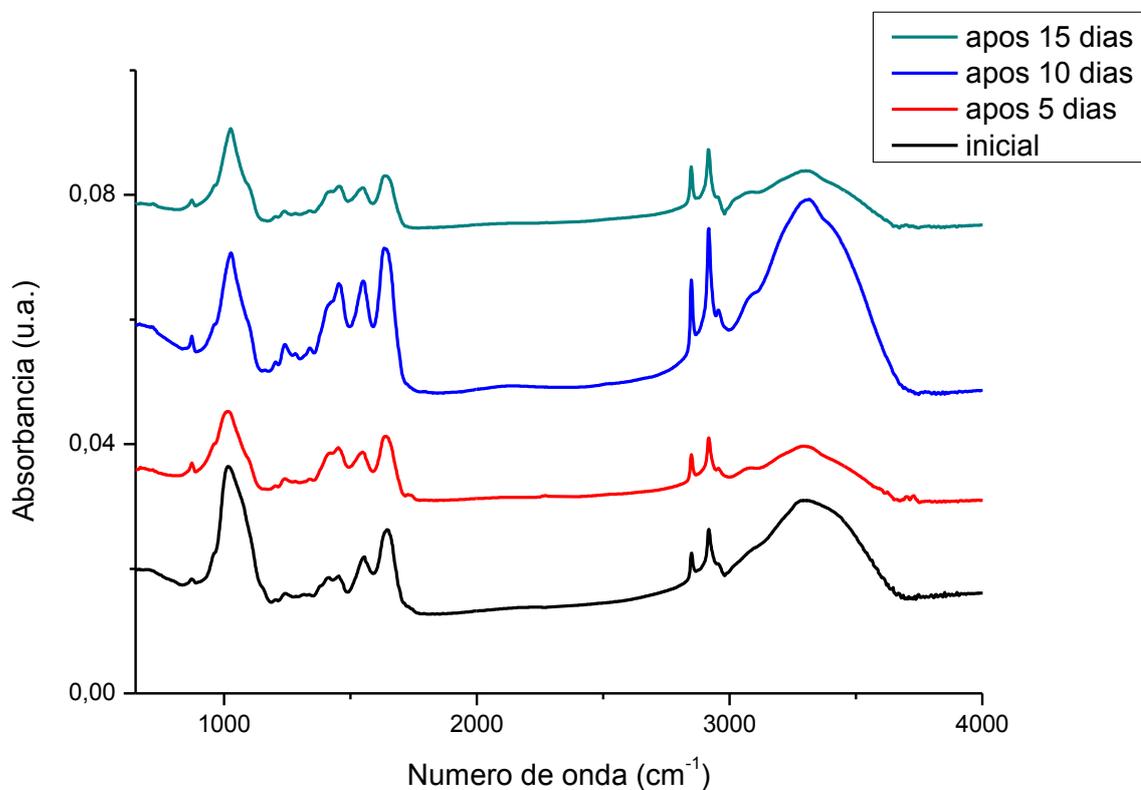


Figura 51: Média dos espectros de absorção das amostras referentes ao Grupo 4, obtidos na região entre 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , para os diferentes dias de desafio erosivo.

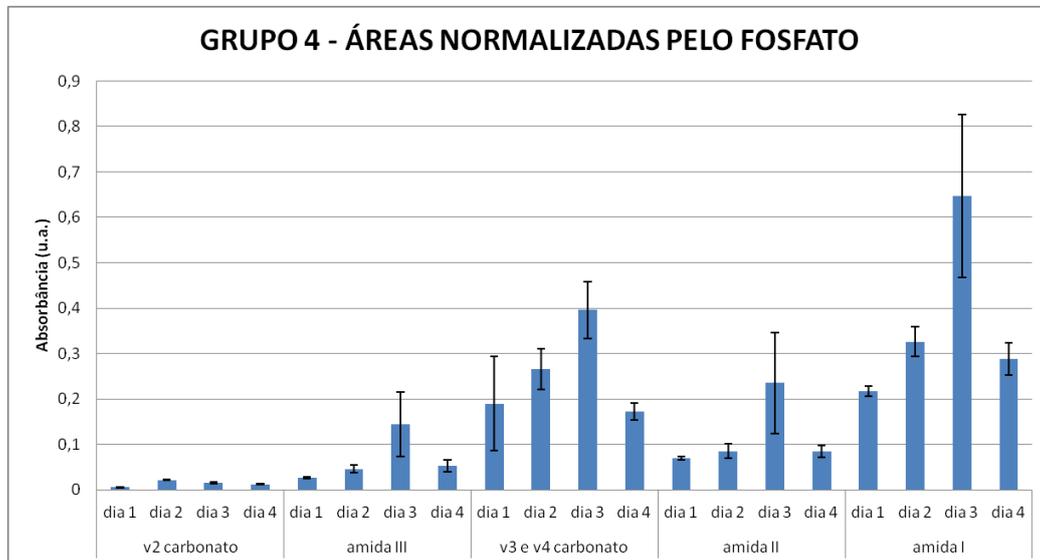


Figura 52: Áreas sob as bandas de absorção (v2 carbonato, amida III, v3 e v4 carbonato, amida II e amida I) do grupo 4, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

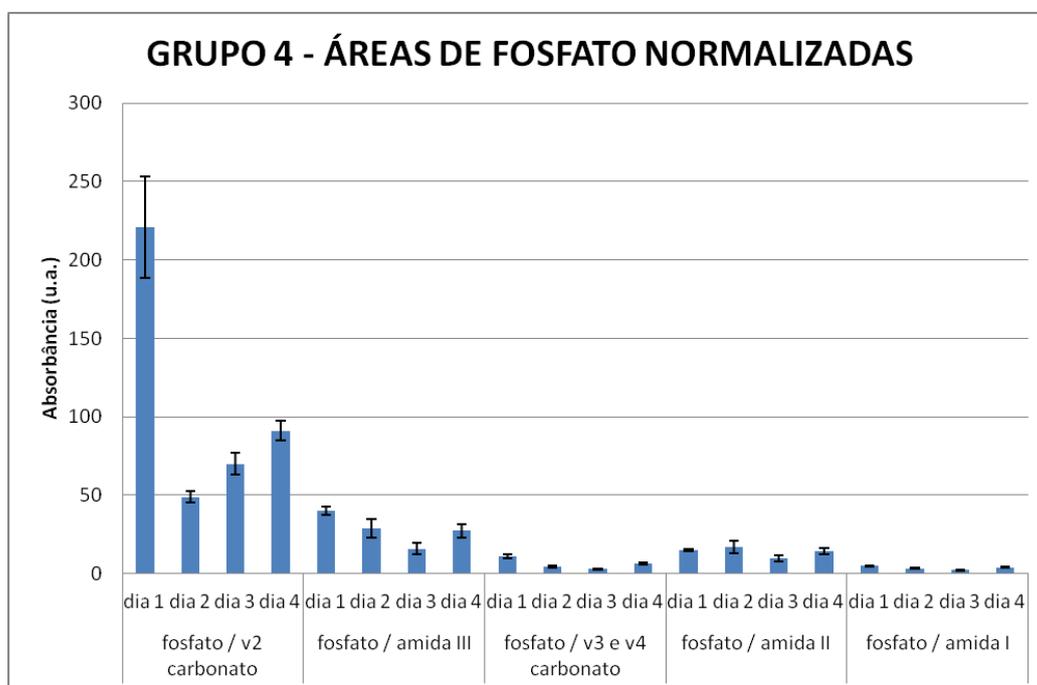


Figura 53: Áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012 cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho, para o grupo 4 nos diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

No grupo 4 observa-se desmineralização inferior quando comparado com aos demais grupos (1, 2 e 3), o que é verificado devido a baixa perda de fosfato no decorrer do tempo. Isto se deve à aplicação de flúor ou à associação laser + flúor a que se submete as amostras. Estudos anteriores sugerem que a associação da irradiação laser com o FFA promova maior diminuição da perda mineral quando comparados com os efeitos promovidos pelos tratamentos isoladamente. Embora os reais mecanismos não estejam completamente esclarecidos, sugere-se que a irradiação laser promova maior formação e retenção de CaF_2 , o que aumenta o efeito cariostático por mais tempo [8]. Este fato pôde ser observado nas análises por FTIR, à medida em que se observou menor perda mineral nos grupos em associação dos tratamentos quando comparados aos tratamentos isolados.

Além disso, observou-se, nas análises, que houve a formação de lesão mesmo após os tratamentos, e que esta teve relação positiva com o tempo de desafio erosivo. Como já citado em revisão bibliográfica, tal afirmação mostra-se condizente já que observou-se que embora o flúor reduza significativamente a perda mineral e, com isso a progressão da lesão, não impede sua formação. [8]

Deste modo, verifica-se a potencialização do efeito de diminuição da desmineralização em relação ao grupo controle negativo, ao grupo flúor e ao grupo laser, o que sugere um melhor resultado contra a patologia de erosão dentária a associação de ambas tecnologias.

6.2.1.5 Grupo 5

A média dos espectros de absorção obtidos das amostras do grupo 5 analisadas no presente estudo é mostrado na Figura 54. Nesta figura, são indicadas as médias dos

espectros obtido nos dias 1, 2, 3 e 4 para o grupo experimental em questão, na região compreendida entre 500 e 4000 cm^{-1} , sem tratamento dos dados (normalizações ou suavizações).

A Figura 55 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas analisadas no presente estudo, as quais encontram-se normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012cm^{-1}). A Figura 56 apresenta gráficos de barra e erros padrão referentes às áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho.

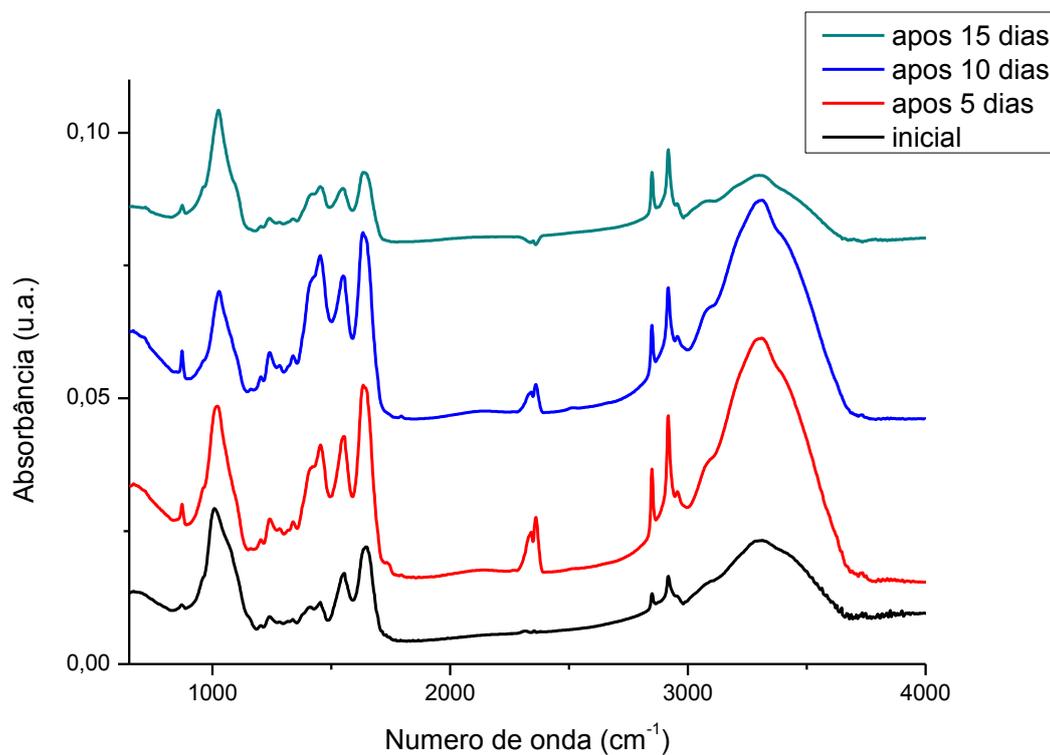


Figura 54: Média dos espectros de absorção das amostras referentes ao Grupo 5, obtidos na região entre 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , para os diferentes dias de desafio erosivo.

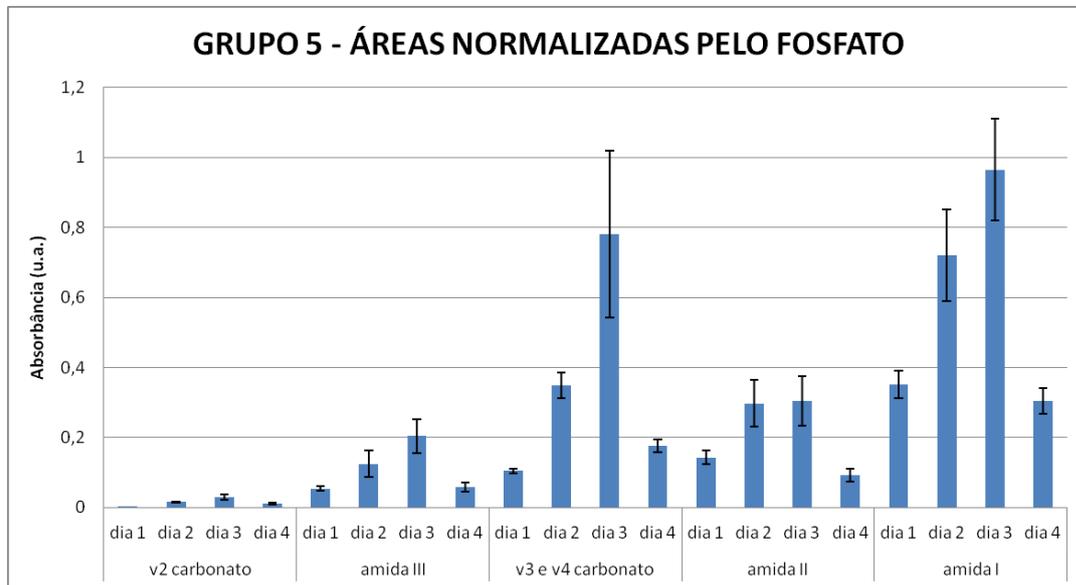


Figura 55: Áreas sob as bandas de absorção (ν_2 carbonato, amida III, ν_3 e ν_4 carbonato, amida II e amida I) do grupo 5, normalizadas pela banda de absorção do fosfato (1012 cm^{-1}), para os diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

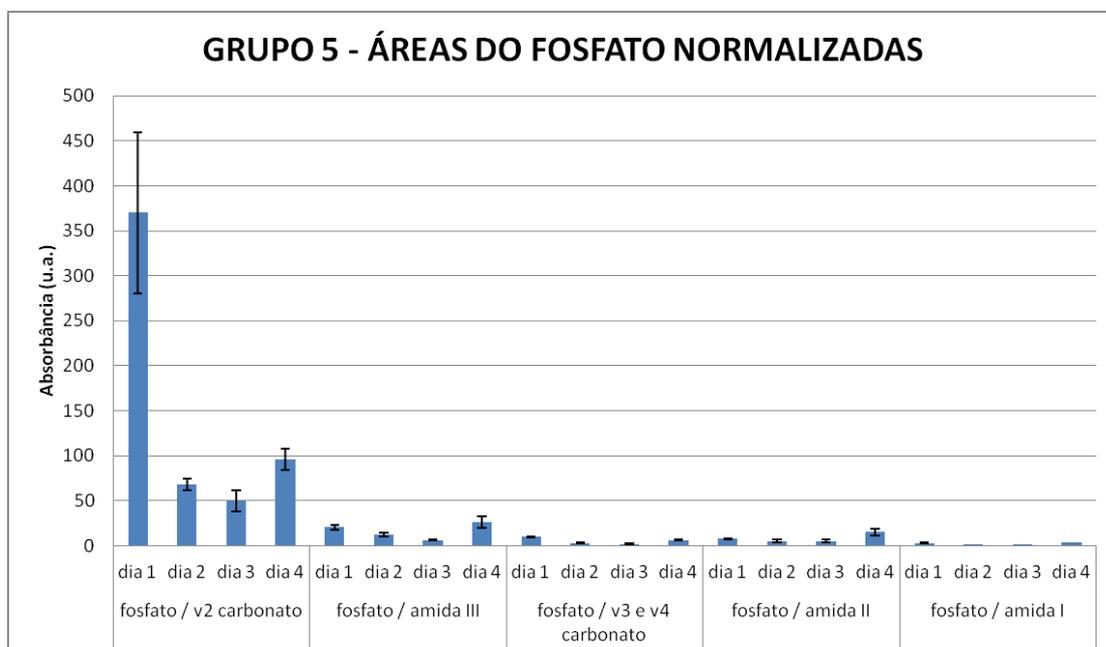


Figura 56: Áreas sob as bandas de absorção do radical fosfato (1012 cm^{-1}) em comparação com as demais substâncias analisadas no presente trabalho, para o grupo 2 nos diferentes dias de desafio erosivo. As barras evidenciam erro-padrão.

A partir da análise das figuras 54 a 56 pode-se verificar similaridade entre os resultados obtidos para o grupo 4, discutido no tópico 6.1.2.4 do presente relatório. Tal observação sugere que a associação de metodologia laser e flúor apresenta maior eficácia na prevenção de erosão dentária em relação aos métodos isolados (ou a ausência destes), indiferentemente da sequência de sua aplicação na amostra.

7 Conclusões

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que:

1 – a aplicação de flúor fosfato acidulado e a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG ocasionam mudanças químicas na microestrutura da dentina, alterando os conteúdos relativos de material orgânico e inorgânico;

2 – os efeitos promovidos pelos tratamentos propostos influenciam na progressão das lesões de erosão;

3 – os efeitos promovidos pela associação da irradiação laser com aplicação tópica de flúor apresentam-se mais promissores para prevenção da erosão dentária do que a aplicação isolada destes tratamentos;

4 - a técnica de ATR-FTIR mostra-se eficiente para avaliar e monitorar as mudanças composicionais que ocorrem na dentina radicular durante o desenvolvimento das lesões de erosão.

8 Bibliografia

[1] KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[2] BACHMANN, L. Estrutura e Composição do Esmalte e da Dentina Tratados Termicamente ou Irradiados com Lasers Emissores no Infravermelho. Tese de Doutorado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2004

[3] SOBRAL, M. P.; LACHOWSKI K.M.; ROSSI, W.; BRAGA, S. R. M.; RAMALHO, K. M. Effect of Nd:YAG Laser and Acidulated Phosphate Fluoride on Bovine and Human Enamel Submitted to Erosion/Abrasion or Erosion Only: An in Vitro Preliminary Study. Photomedicine and Laser Surgery Volume 27, Number 5, 2009

[4] VIEIRA, D. M. Influência do Tempo e da Concentração no Condicionamento Ácido em Esmalte e Dentina: Revisão de Literatura. Tese de Mestrado. Universidade Cruzeiro do Sul. São Paulo. 2009

[5] PASHLEY, D. H.; MICHELICH, V.; KEHL, T. Dentin Permeability: effects of *smear layer* removal. J. Prosthet Dent. 1981; 46 (5):531-7 *Apud* VIEIRA, D. M. Influência do Tempo e da Concentração no Condicionamento Ácido em Esmalte e Dentina: Revisão de Literatura. Tese de Mestrado. Universidade Cruzeiro do Sul. São Paulo. 2009

[6] MELLO, D. M. Estudo retrospectivo das diferentes técnicas de condicionamento ácido sobre a dentina e a importância do condicionamento diferenciado. Monografia. São Paulo: Sindicato dos Odontologistas do Estado de São Paulo. 2009 *Apud* VIEIRA, D. M. Influência do Tempo e da Concentração no Condicionamento Ácido em Esmalte e

Dentina: Revisão de Literatura. Tese de Mestrado. Universidade Cruzeiro do Sul. São Paulo. 2009

[7] KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. Histologia e Embriologia Oral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999 *Apud* VIEIRA, D. M. Influência do Tempo e da Concentração no Condicionamento Ácido em Esmalte e Dentina: Revisão de Literatura. Tese de Mestrado. Universidade Cruzeiro do Sul. São Paulo. 2009

[8] ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007

[9] RIOS, D.; MAGALHÃES, A. C.; MACAHDÓ, M. A. A. M.; SILVA, S. M. B.; LIZARELLI, R. F. Z.; BAGNATO, V. S.; BUZALAF, M.A.R. In Vitro Evaluation of Enamel Erosion After Nd:YAG Laser Irradiation and Fluoride Application. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 27, Number 5. 2009

[10] EHLEN, L. ^ª; MARSHALL, T. ^ª; QIAN, F.; WEFWL, J. S.; WARREN, J. J. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. *Nutr Res.* 28(5): 299–303. 2008

[11] SERRA, M. C.; MESSIAS, D. C. F.; TURSSI, C. P. Control of Erosive Tooth Wear: Possibilities and Rationale. *Braz Oral Res* 23(Spec Iss 1):49-55. 2009

[12] MEURMAN, J. H.; FRANK, R. M. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res.* 1991; 25(2): 81-8 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[13] WIEGAND, A.; ATTIN, T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions – a review. *Oral Health Prev Dent.* 2003; 1(4): 245-53 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro

e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[14] LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004; 38(Suppl 1):34-44 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[15] BARTLETT, D. Etiology and Prevention of Acid Erosion. *Compendium.* Volume 30, Number 9. 2009

[16] LUSSI, A.; JAEGGI, T.; SCHARER, S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res.* 1993; 27(5):387-93 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[17] LINNET, V. SEOW, W. K. Dental erosion in children: a literature review. *Pediatr Dent.* 2001; 23(1):37-43. *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[18] GUDMUNDSSON, K.; KRISTLEIFSSON, G.; THEODORS, A.; HOLBROOK, W. P. Tooth erosion, gastroesophageal reflux, and salivary buffer capacity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 79(2):185-9 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[19] BARLETT, D. W.; SMITH, B. G.; WILSON, R. F. Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. *Br Dent J.* 1994; 176(9):346-8 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007

[20] ATTIN, T.; SIEGEL, S.; BUCHALA, W., ETAL. Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: an in situ study. *Caries Res.* 2004; 38(1):62-66 *Apud* BARTLETT, D. Etiology and Prevention of Acid Erosion. Compendium. Volume 30, Number 9. 2009

[21] VIEIRA, A.; RUBEN, J. L.; STOKROOS, I.; HUYSMANS, M. C. D. N. J. M. Surface and subsurface analysis of eroded bovine enamel pretreated with fluoride [abstract 101]. *Caries Res.* 2004; 38(4):391 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007.

[22] WEST, N. X.; HUGHES, J. A.; PARKER, D. M.; NEWCOMBE, R. G.; ADDY, M. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 2: comparison with a conventional blackcurrant juice drink and Orange juice. *J. Dent.* 1999; 27(5):341-4 *Apud* KATO, T. M. Avaliação in vitro e in situ do efeito dos íons de ferro na erosão da superfície dentária bovina e humana. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru. 2007.

[23] CHAVANTES, M. C. Laser em Bio-medicina: princípios e prática: guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas. São Paulo: Atheneu, 2009.

[24] RIBEIRO, M. S. Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões

de pele. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo, 2000.

[25] PEREIRA, R. M. Efeito de lasers de baixa potência em três diferentes comprimentos de onda no processo de cicatrização de queimaduras de 3° grau. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba, 2005.

[26] SOUSA, M, V, P. Estudo e desenvolvimento de simuladores de tecidos humano para utilização em fototerapia. Instituto de Física – Universidade de São Paulo, 2010.

[27] MOREIRA, A. Avaliação da adesão do cimento de ionômero de vidro à dentina irradiada com laser de Nd:YAG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) – Universidade de São Paulo – Faculdade de Odontologia, 2001.

[28] SILVA, D. F. T. Análise da birrefringência do colágeno e do coeficiente de atenuação de amostras de pele sadia e queimada irradiadas pelo laser de He-Ne linearmente polarizado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo, 2002.

[29] RICCI, R. Estudo in vitro da Biomodulação de Células Endoteliais em Resposta a Diferentes Dosimetrias do Laser de Semicondutor Fosfeto de Índio-Gálio-Alumínio. Tese de Mestrado. Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos-SP. 2003

[30] BACHMANN, L.; DIEBOLDER, R.; HIBST, R.; ZECELL, D. M. Changes in Chemical Composition and Collagen Structure of Dentine Tissue After Erbium Laser Irradiation. Elsevier B.V. Spectrochimica Acta Part A Volume 61, 2005

[31] BELTRANO, J. J.; TORRISI, L., CAMPAGNA, E.; RAPISARDA, E.; FINOCCHIARO, I; OLIVI, G. Er,Cr:YSGG Pulsed laser applied to medical dentistry, Radiation Effects and Defects in Solids, 163:4, 331 – 338, 2008

[32] http://www.as.northropgrumman.com/products/synoptics_er_cr_ysgg/index.html

Acesso em 12 de agosto de 2011

[33] BENETTI, C.; SANTOS, M. O.; RABELO, J.S.; ANA, P. A.; CORREA, P. R.; ZECELL, D. M. Detection of Chemical Changes in Bone after Irradiation with Er,Cr: YSGG laser. *Photonics Therapeutics and Diagnostics VII*. 2011, Vol. v. 7883.

[34] RABELO, J. S.; ANA, P. A.; BENETTI, C.; VALÉRIO, M. E. G.; ZECELL, D. M. Changes in Dental Enamel Oven Heated or Irradiated with Er,Cr:YSGG Laser. Analysis by FTIR. *Laser Physics*, 2010, Vol. 20, No. 4, pp. 871–875, 2010.

[35] MAGALHAES, A.C., RIOS, D., MACHADO, M.A.A.M., et al. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentin resistance to erosion in vitro. *Photomed. Laser Surg*, 2008, v. 26, pp. 559–563.

[36] FEATHERSTONE, J. D. B. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Comm. Dent. Oral Epidemiol.*, v.27, p.31-40, 1999. Apud ANA, P.A. *Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irrradiado com Laser de Er, Cr: YSGG*. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[37] FERJESKOV, O.; KIDD, E. *Cárie Dentária: a doença e seu tratamento clinic*. São Paulo, Sp. Editora Santos. 2005 Apud ANA, P.A. *Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irrradiado com Laser de Er, Cr: YSGG*. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[38] LEGEROS, R. Z. Calcium phosphates in demineralization/remineralization processes. *J. Clin. Dent.*, v.10, n.2, p.65-73. 1999 Apud ANA, P.A. *Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irrradiado com Laser de Er, Cr: YSGG*. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[39] CURY, J. A. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: BARATIERI, L. N. et al Odontologia Restauradora – Fundamentos e Possibilidades. São Paulo, SP. Editora Santos. P.33-68. 2001 Apud ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[40] DELBEM, A. C. B.; CURY, J. A.; NAKASSIMA, C.K.; GOUVEIA, V. G.; THEODORO, L. H. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ formation and its anti-cariogenic action on human enamel: na in vitro study. J. Clin. Laser Med. Surg. V.21. p.197-20. 2003 Apud ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[41] PAES LEME, A. F.; TABCHOURY, C. P. M.; ZERO, D.T.; CURY, J. A. Effect of fluoridates dentifrice and acidulated phosphate fluoride application and early artificial caries lesions. Am. J. Dent., v.16, n.2, p. 91-95, 2003. Apud ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[42] FOWLER, B. O.; KORUDA, S. Changes in Heated and in Laser Irradiated Human Tooth Enamel and their Probable Effect on solubility. 1986, Calcif Tissue Int, Vol. v.38, pp. 197-208. Apud ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[43] KURODA, S.; FOWLER, B. O. Composicional, structural, and phase changes in *in vitro* laser irradiated human tooth enamel. Calcif. Tissue Int., v.36, p. 361-369, 1984. Apud ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de

Flúor em Esmalte Dental Irrradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.

[44] OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res.*, v.24, n.2, p.86-92, 1990. Apud ANA, P.A. Estudos In Vitro da Resistência à Desmineralização e da Retenção de Flúor em Esmalte Dental Irradiado com Laser de Er, Cr: YSGG. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN. São Paulo. 2007.