RICARDO SCARPARO NAVARRO

**AVALIAÇÃO DA PERDA MINERAL DO ESMALTE ADJACENTE A
CAVIDADES PREPARADAS COM LASER DE ER,Cr:YSGG E
RESTAURADAS COM DIFERENTES MATERIAIS APÓS DESAFIO ÁCIDO**

São Paulo
2008

Ricardo Scarparo Navarro

**AVALIAÇÃO DA PERDA MINERAL DO ESMALTE ADJACENTE A CAVIDADES
PREPARADAS COM LASER DE ER,Cr:YSGG E RESTAURADAS COM DIFERENTES
MATERIAIS APÓS DESAFIO ÁCIDO**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
da Universidade de São Paulo, para obter o título
de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Guedes-Pinto

São Paulo

2008

FOLHA DE APROVAÇÃO

Navarro RS. AVALIAÇÃO DA PERDA MINERAL DO ESMALTE ADJACENTE A CAVIDADES PREPARADAS COM LASER DE Er,Cr:YSGG E RESTAURADAS COM DIFERENTES MATERIAIS APÓS DESAFIO ÁCIDO [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, / / 2008

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À **DEUS**, pela minha vida, pela proteção, por ter iluminado meu caminho, me dado saúde e forças e principalmente ter colocado pessoas especiais que me protegem e orientam, possibilitando que eu atinja meus ideais.

Aos meus pais, **DIVA** e **CLAÚDIO**, pelo carinho, amor, paciência e incansável dedicação em todos esses anos. A vocês, que me ensinaram princípios como honestidade e responsabilidade, e sempre acreditaram em mim, a minha eterna gratidão. Só cheguei até aqui graças a vocês...

Aos meus irmãos e grandes amigos, **ROSANGÊLA** e **CLÁUDIO SÉRGIO**, meus cunhados **VALDIR** e **JAQUELINE** pelo carinho, atenção e suporte em tudo que sempre precisei.

As crianças **ANDRÉ**, **ANA CAROLINA**, **THIAGO** e **VICTOR** o meu carinho e esperança de um futuro e um mundo cada vez melhor para todos...

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao **Prof Dr. José Carlos P. Imparato** por tudo que fez e faz por mim, desde antes da minha chegada à Odontopediatria. Ele simplesmente me adotou, no sentido original da palavra, sendo meu orientador, “chefe”, conselheiro e acima de tudo amigo.

Sempre abrindo as portas para mim e todos que o cercam, esta é uma marca do seu trabalho, me ensinou a ter paciência, tolerância e inteligência para vencer cada etapa almejada. Será sempre um exemplo de Mestre, Educação e Ética. Se no mundo existissem mais “Imparatos” tudo seria diferente, havendo mais justiça, respeito, oportunidades e valorização para o *trabalho* sério e responsável.

É um prazer e um sonho realizado poder dizer: “sou assistente do Prof Imparato”...

Tenho nas suas atitudes minhas referências, em busca de um mundo melhor, ter coragem em enfrentar desafios, lutar e mudar paradigmas... Eu serei eternamente grato por tudo! Muito Obrigado...

Ao **Prof Dr. Antonio Carlos Guedes-Pinto**, por ter podido durante estes anos desfrutar dos seus conhecimentos, orientações, conversas e estórias, seu exemplo de Líder, agregando a todos que o cercam, valorizando o respeito, o trabalho sério e responsável e dando oportunidade a todos que a conquistam. Sinto-me privilegiado pela convivência e por tudo que aprendi que certamente servirá de guia para minha vida pessoal e profissional, no presente e principalmente no futuro... Obrigado professor pela oportunidade que me trouxe, e a partir desta, o crescimento e as mudanças em vários aspectos da minha vida.

Ao **Prof Dr. Fausto Medeiros Mendes**, amigo e orientador, para mim um exemplo de profissional completo, que alia a didática do ensino, o raciocínio e a visão crítica de um pesquisador e a competência de um clínico. Seus conhecimentos, orientações e participação foram fundamentais para realização deste trabalho. Peço a Deus que possamos trabalhar muito juntos, e aprender a “fazer ciência e tornar-me um cientista” como você.

A **Profa Clarissa C. Bonifácio** pelo apoio e presença inestimáveis na minha vida... Sem sua força, amizade, capacidade profissional, inteligência e perseverança não teria chegado neste momento...*“you are the best”!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, representada pela Magnífica Reitora **Profa. Dra. Suely Villela**.

À Faculdade de Odontologia de São Paulo – FOUSP, representada por seu Diretor, **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**.

Ao **Prof. Dr. Reinaldo Brito Dias**, Coordenador Geral da Pós-Graduação da FOUSP.

À **Profa. Dra. Célia Regina Martins Delgado Rodrigues**, pelo carinho, amizade, ensinamentos que sempre me proporcionou em todos os momentos desde a minha vida acadêmica. Eternamente obrigado por tudo...

À **Profa. Dra. Adriana Bona Matos**, grande mestre e pesquisadora incansável, sempre me orientando e motivando, nos mais diferentes momentos da minha vida pessoal e acadêmica, com muito carinho, amizade, paciência e disponibilidade. Obrigado por fazer parte da minha vida e minha história... Estaremos sempre juntos, buscando e acima de tudo vencendo desafios...

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, pelo exemplo de dinamismo, trabalho em equipe e visão arrojada; agradeço por ter me aberto as portas e os conhecimentos no campo dos Lasers e mostrar a cada dia que “buscar desafios é o que motiva o sucesso”.

À **Profa. Dra. Maria Salete Nahás Pires Corrêa**, pelo grande exemplo de vida e dedicação à Odontopediatria, sou um privilegiado por Deus por poder compartilhar dos seus ensinamentos “*grande mestra*”!

Ao **Prof. Dr. Marcelo José S. Bönecker** pelo incentivo, amizade e palavras de apoio nos mais diferentes momentos, sempre aberto ao trabalho em equipe, obrigado pela disposição e *abertura* a novas oportunidades de trabalho atuais e *futuras*...

À **Profa. Marcia Tuolla Wanderley**, pelo carinho e amizade de muito tempo... sua presença e apoio são muito importantes para mim.

À **Profa. Dra. Claudia Perez Trindade**, pelo carinho e conselhos, um grande exemplo de determinação, luta e garra na vida e profissão, cabe-lhe bem a expressão “*gente que faz*”!

A **Profa. Dra. Ana Estela Haddad**, pela amizade, carinho e apoio, meus sinceros agradecimentos.

À **Profa. Dra. Ana Lúcia Ciamponi**, por ter me dado a oportunidade de trabalho em sua equipe no atendimento de pacientes especiais com Lasers. Obrigado pela sua amizade e convivência.

As **Profas Dra Daniela P. Raggio e Rachel Rocha** pelo apoio e presença constantes na minha vida, pelo incentivo na minha ida para a Odontopediatria, *vocês foram as primeiras*, e meus grandes e eternos exemplos de mestres, no sentido original da palavra, pesquisadoras e clínicas, vocês não imaginam quanto aprendi e aprendo com vocês..."quando crescer quero ser igual vocês"...

À **Profas Dra Patrícia Freitas e Dra. Ana Cecília Aranha**, acima de tudo minhas amigas, grandes exemplos de profissionalismo, competência e capacidade... obrigado por me valorizar, apoiar e incentivar em todos os momentos.

À **Profa Dra. Denise M. Zezell**, do Laboratório de Biofotônica do Centro de Lasers e Aplicações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CLA-IPEN-CNEN/SP), sempre disposta a me ajudar e orientar, meus sinceros e eternos agradecimentos por ter aberto seu laboratório, e permitido a utilização do equipamento de Er,Cr:YSGG para a realização deste estudo.

À **Prof. Dra. Elizabeth Oliveira**, do Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (LEA- IQ), pela sua atenção e disponibilidade em transmitir seus conhecimentos, por ter permitido a utilização do equipamento de Espectrofotometria para a realização deste experimento. Meus sinceros e eternos agradecimentos.

Ao **Profs Dr. José Nicolau e Fernando**, ao **Douglas N. Souza** e às **alunas da pós-graduação**, do Centro de Pesquisas em Biologia Oral do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP, pela ajuda, importantes e fundamentais orientações, cálculos e por possibilitar a utilização do laboratório durante a fase experimental.

Ao **Prof Dr. Issac Jamil Sayeg**, **Prof Dr. Paulo César Fonseca Giannini**, técnicos **Rebeca**, **Adriano** e **Victor**, do Laboratório de Petrografia Sedimentar do Instituto de Geologia da USP, muito obrigado pela permissão e orientação na utilização do microscópio e analisador de imagens, sempre dispostos a colaborar e ensinar.

A **Profas Márcia Marques e Denise Cerqueira Oliveira** pela amizade e carinho, conselhos e apoio na minha trajetória...

A **Profa. Maria Inêz Nobre dos Santos** da FOP-UNICAMP, obrigado pelas orientações, fundamentais na realização do estudo piloto deste trabalho, nunca me esquecerei do seu apoio e carinho desde São Francisco...

A **Carolina Benetti**, pesquisadora do CLA-IPEN, pelo auxílio e disponibilidade durante a utilização do laboratório e equipamentos do CLA-IPEN, nunca me esquecerei da sua ajuda...você foi um anjo no meu caminho...obrigado Profa Denise!

A **Fernanda Ourives**, pelo apoio, competência e parceria durante a execução do experimento, muito obrigado por tudo.

As **Profas. Adriana Tashima, Daniela F. Pereira** e **Prof Cássio Alencar** obrigado pelo apoio, carinho e incentivo nos momentos mais decisivos, a amizade e presença de vocês é fundamental para minha vida!

Ao **Prof Dr. Thiago M. Ardenghi** pela amizade, apoio e ensinamentos durante todo curso; sua sabedoria e inteligência, aliadas ao bom humor serão inesquecíveis para mim... *bah você é o cara guri!*

As queridas amigas **Profas Dra. Fernanda Moraes, Sandra Echeverria, Mariana Braga, Marcela Marchezan e Daniela (mineira)** pela parceria, aprendizado e bons momentos e risadas durante nosso curso...

Aos meus amigos e colegas de pós-graduação: **Adriana Tashima, Adriana Ortega, Alessandra Nassif, Anna Paula, Ana Carolina- Babou, Cássio, Daniela Forlim, Daniela, Fausto, Fernanda Moraes, Fernanda Nahás, Francisco, Gabrila, Isabela, Luciana Butini, Luciana Sanglard, Marcela, Mariana, Marise, Monique, Sandra, Selma, Thiago** pela amizade, convivência, aprendizado e inúmeros momentos de descontração e alegria que me proporcionaram durante estes anos.

Aos meus amigos de longa data e *velhos carnavais...* **Profa Dra. Vera Lúcia, Maria Inêz, Cláudia Capp, Alessandra Cassoni e Prof Dr. Antonio De Cara** como seria tudo sem vocês? Grandes parceiros, guerreiros e acima de tudo referência de profissionalismo e ética na minha vida... obrigado por vocês existirem!

Aos meus amigos e colegas do LELO-FOUSP, **Leila, Liziane, Marina (ão), Bruno L. Silveira, Simone, Daiane, Aline, Débora, Camila, Helena, Karen, Daniel Simões, Fernanda P. Eduardo, Rosely Cordon, Tânia, Antonio Maia**

obrigado pelo carinho, atenção, respeito, apoio e acima de tudo “força em todos os momentos”.

A **Liliane, Haroldo e Joelma** do LELO-FOUSP, pelo carinho, paciência e dedicação, e acima de tudo, a amizade e o respeito que tornam a convivência e trabalho possíveis e prazerosos.

Aos meus amigos dos cursos de Laser do LELO e MPLO, **Profs. Dra. Sheila, Cláudia, Edgar, José Pelino, Luciane e José Tannous**, pelo convívio e aprendizado destes anos todos...

Ao **Prof. Dr. Eduardo Groth**, pela amizade, exemplo de pessoa e profissional e oportunidades dadas... Meus eternos agradecimentos.

À **Profa Dra. Martha S. Ribeiro**, CLA-IPEN-CNEN/SP, pelo carinho, simpatia e amizade, sempre disposta a ajudar, e receber a todos com braços e sorriso abertos.

A **Profa Dra Sandra K. Bussadori** pela amizade, incentivo e apoio em “vencer desafios e alcançar conquistas”...

Aos Professores Dr. Ricardo Fonoff, Dra. Cristina Zardetto, Carolina Sarno, Patrícia Eberson, Sofia, Gabriel Politano, Dr. Sérgio Luis Pinheiro, Glenda Bergamaschi, Flávia-Fru, Lucila, Cecília Britto, Bárbara Marques, Júlio Bassi pelo apoio, incentivo e aprendizado na Odontopediatria.

Aos Profs Fernando Souza e Ana Maria Souza, pelo incentivo, confiança e apoio em todos os momentos que precisei... meu muito obrigado.

Aos Professores e amigos Sandra Kiss Moura, Fellipe Silvestre, João Paulo F. Ribeiro, Bruno Silveira, Vera Lúcia Moldes, Inêz Roda, Sérgio L. Pinheiro, Leila S. Ferreira, Clarissa C. Bonifácio pelo apoio profissional e pessoal, pelas parcerias e aprendizado, pela luta conjunta..."ninguém é uma ilha, sozinhos nunca conquistaremos nada"

A Profa. Dra. Gianni M. Silva dos Santos, do setor de Estatística Aplicada (SEA) da Pró-Reitoria de Pós Graduação e Pesquisa da UNIFESP, meus sinceros e eternos agradecimentos pela orientação e acima de tudo disponibilidade na competente execução da análise estatística deste trabalho.... Mais um anjo que Deus colocou no meu caminho....Obrigado!

A Profa Dra Maria Fidela de Lima Navarro, da FOB-USP, pelo carinho, apoio e exemplo de garra, luta e conquistas na Odontologia.

Aos Professores Drs. Maria da Graça Naclério Homem, Rubens Corte Real Carvalho, José Luiz Lage-Marques, Rosa Helena M. Grande, Roberto R. Braga, Margareth Oda, Maria Aparecida C. Luz, Vera C. Araújo, Monica Lotuffo, Celso Lemos, Luis Alberto P. Penna pelo apoio, amizade, aprendizado e incentivo nestes anos de graduação, pós-graduação e profissão.

Aos Professores e ao Coordenador do Curso de Odontologia do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU) pelo apoio e incentivo profissionais.

Aos Professores e ao Coordenador do Curso de Odontologia da UniCastelo, Prof. Dr. José Cássio A. Magalhães, e ao Prof Dr. José Leonardo Simone pelo respeito e confiança em mim depositadas, o apoio na fase final do meu trabalho foi fundamental para sua realização e conclusão, meus sinceros agradecimentos. Obrigado por tudo!

As minhas eternas e grandes amigas Yoshie, Christiane, Raquel e Grázia obrigado pelo carinho e força... vocês são inestimáveis para mim.

Aos meus amigos Luciana, Naya, Renata, Rodrigo, Patrícia, Andréia Traina, pelo carinho e bons momentos...

Aos meus amigos **João Paulo, Leandro, César, Leonardo, Lucas, Orlando, Beto, Wagner, Johan, Maurício, Nelson, Samantha** pelo apoio e torcidas constantes...

Aos meus amigos **Marize, Clemência, Fátima, Izilda “Fada dos Dentes”** e **Júlio César**, da Disciplina de Odontopediatria da FOU SP, e **Edna, Viviane** e **Marinalva** da Disciplina de Ortodontia da FOU SP, todos sempre dispostos a me ajudar, me recebendo com carinho e “sempre um sorriso”, pelas conversas e almoços na copa; obrigado pela convivência, torcida e apoio.

À **Rosa, Mirtes, Antônio e Silvio**, funcionários da Disciplina de Materiais Dentários da FOU SP, pela ajuda e atenção que sempre tiveram comigo!

À **Soninha e Arnaldo**, funcionários da Disciplina de Dentística da FOU SP, que sempre foram gentis comigo e me auxiliaram em vários momentos.

A **Regiane** e **Larissa** pelo apoio e colaboração em todos os momentos...

À **Cátia, Alessandra e Nair**, secretárias da Pós-Graduação da FOU SP, pela paciência e ajuda diante das dificuldades e conquistas desse período.

Às bibliotecárias **Glauci** e **Vânia**, do SDO-FOU SP, obrigado pela ajuda na revisão e normatização das referências bibliográficas, com total

paciência, competência e carinho, além dos outros **funcionários do SDO-FOUSP**, “nunca vi pessoas tão dedicadas, competentes e que amam o que fazem...”

À **Solange**, pela confecção da ficha catalográfica.

Ao **Sérgio** da Casa das Teses pela eficiência, seriedade e ajuda nos momentos finais.

Ao **Banco de Dentes Humanos** da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) e aos pacientes que doaram seus dentes e possibilitaram a realização deste estudo.

A **Cyntia Bensusachi, Edelma T. Leal e Anadelia Soares**, da 3M ESPE do Brasil, pela doação dos materiais utilizados no estudo, pelo apoio, presteza e parcerias fundamentais para a realização das pesquisas nestes anos.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pela concessão da bolsa de estudo durante o curso de Pós-Graduação.

A **Todas as Pessoas** que, com as mais simples palavras, gestos e auxílio, me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

Soluções (pessoas que sempre oferecem mais soluções do que dificuldades)

Organização (pessoas que planejam e organizam seus sonhos, e metas)

Regularidade (disciplina, persistência)

Tolerância (flexibilidade e paciência para lidar com pessoas e situações difíceis)

Esforço extra (tudo aquilo que fazemos além do necessário – o *plus*)

Navarro RS. AVALIAÇÃO DA PERDA MINERAL DO ESMALTE ADJACENTE A CAVIDADES PREPARADAS COM LASER DE Er,Cr:YSGG E RESTAURADAS COM DIFERENTES MATERIAIS APÓS DESAFIO ÁCIDO [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a perda mineral no esmalte adjacente a cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG e restauradas com diferentes materiais, liberadores ou não de flúor, após desafio ácido. Cento e vinte blocos de esmalte dental de terceiros molares humanos (4 x4 mm) foram aleatoriamente divididas em 12 grupos (n=10) de acordo com a técnica de preparo: G1- alta-rotação (AR); G2- Laser de Er,Cr:YSGG (3W, 20Hz, 53,05 J/cm²)(65% ar, 55% água); G3- Laser de Er,Cr:YSGG (4 W, 20 Hz, 70,74 J/cm²); G4- Laser de Er,Cr:YSGG (5 W, 20 Hz, 88,43 J/cm²). Cada grupo experimental foi dividido em subgrupos, conforme o material restaurador utilizado: 1- cimento de ionômero de vidro (CIV), 2- cimento de ionômero de vidro resino modificado (CIVRM), 3- sistema adesivo e resina composta (RC). As amostras foram submetidas a desafio ácido (pH 4,8) por 7 dias. As concentrações do íon cálcio nas soluções desmineralizadoras (ppm/mm²), nos diferentes tempos (1, 3 e 7 dias), foram analisadas por espectrofotometria de emissão atômica. Os dados obtidos foram analisados usando os testes estatísticos ANOVA e LSD ($\alpha=5\%$) mostrando haver diferenças significativas entre Técnica e Material Restaurador no tempo total. Os menores valores médios da perda de cálcio foram obtidos nos grupos G2 + CIV, G2 + CIVRM e G1 + CIVRM; os maiores valores foram observados nos grupos de G1 + RC, G4 + CIV e G4 + RC. As restaurações de RC apresentaram maior perda mineral que as de CIV e CIVRM; os preparos com laser utilizando menor radiância (53,05J/cm²) apresentaram significante

menor desmineralização que as maiores radiâncias (70,74 e 88,43J/cm²). Nenhuma técnica ou material impediu a desmineralização do esmalte. Os resultados deste estudo *in vitro* sugerem que a realização de preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG (53,05J/cm²) restaurados com CIV e CIVRM ou alta-rotação e CIVRM foram efetivos na redução da perda mineral e aumento da resistência ácida do esmalte adjacente as restaurações após desafio ácido, com importante potencial em prevenir lesões de cárie secundária.

Palavras-Chave: Laser de Er,Cr:YSGG; Lesão de cárie secundária; Perda mineral; Esmalte; Desmineralização; Espectrofotometria; Materiais restauradores; Cimento de Ionômero de vidro

Navarro RS. Evaluation of enamel mineral loss around cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser and restored with different materials after an acid challenge [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the enamel calcium loss around cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser and restored with different materials after an acid challenge. One hundred and twenty enamel samples obtained from third molars (4 x 4 mm) were randomly divided in 12 groups (n=10) using different techniques: G1- high-speed drill (HD); G2- Er,Cr:YSGG laser (3W, 20Hz, 53.05 J/cm²)(air 65% - water 55%); G3- Er,Cr:YSGG laser (4 W, 20 Hz, 70.74 J/cm²); G4- Er,Cr:YSGG laser (5 W, 20 Hz, 88.43 J/cm²). Each experimental group was divided in subgroups, according to the restorative material: 1 - glass ionomer cement (GIC), 2 - resin modified GIC (RMGIC), 3 - adhesive system and composite resin (C). Samples were submitted to an acid challenge (4.8 pH) for 7 days. The Demineralizing solutions were analyzed in relation to the calcium ion content (ppm/mm²), in different times (1, 3 and 7 days), under atomic emission spectrometry. ANOVA and LSD tests were performed ($\alpha=5\%$). There were significant difference between Technique and Restorative Material on Total Time. The lower average values of calcium loss were observed on G2 + GIC, G2 + RMGIC, G1 + RMGIC groups; the higher values were observed on G1 + C, G4 +GIC, G4 + C. The composite resin showed higher calcium loss than RMGIC and GIC. The lased cavities using lower fluence (53.05J/cm²) showed significant reduced demineralization than higher fluences (70.74 and 88.43J/cm²). Neither the techniques nor the restorative materials used were able to prevent the enamel demineralization. The findings of this *in vitro* study suggest that the Er,Cr:YSGG lased cavities (53.05J/cm²) restored with GIC or RMGIC or conventional drill cavities with

RMGIC were effective on reducing the mineral loss and enhancing the enamel acid resistant around restorations after the acid challenge, showing an important potential in preventing secondary caries.

Keywords: Er,Cr:YSGG Laser; Secondary caries lesions; Mineral loss; Enamel; Demineralization; Spectrometry; Restorative materials; Glass ionomer cement

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 – Esquema ilustrativo do delineamento experimental.....	107
Figura 4.2 - Seleção, preparo das amostras e realização das cavidades com alta-rotação e laser de Er,Cr:YSGG	108
Figura 4.3 – Procedimento restaurador	109
Figura 4.4 –Desafio ácido, análise das soluções no espectrofotômetro e das amostras na lupa estereoscópica	110
Figura 5.1 – Distribuição das perdas médias de cálcio, segundo Técnica e Material, ao longo dos Tempos considerados.....	117
Figura 5.2 – Gráfico Boxplot da perda de cálcio no Tempo total nos diferentes grupos experimentais	120
Figura 5.3 – Imagens ilustrativas em lupa estereoscópica (10X) das amostras dos diferentes grupos experimentais (11, 12, 13, 21, 22 e 23) após imersão na solução desmineralizadora	127
Figura 5.4 - Imagens ilustrativas em lupa estereoscópica (10X) das amostras dos diferentes grupos experimentais (31, 32, 33, 41, 42 e 43) após imersão na solução desmineralizadora	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Diferentes grupos experimentais de preparos cavitários	93
Tabela 4.2 – Parâmetros utilizados com laser de Er,Cr:YSGG para realização dos preparos cavitários.....	93
Tabela 5.1 – Medidas-resumo da perda de cálcio na Técnica alta-rotação, segundo Material e Tempo	112
Tabela 5.2 - Medidas-resumo da perda de cálcio na Técnica Laser de Er,Cr:YSGG com 3W, segundo Material e Tempo	113
Tabela 5.3 - Medidas-resumo da perda de cálcio na Técnica Laser de Er,Cr:YSGG com 4W, segundo Material e Tempo	114
Tabela 5.4 - Medidas-resumo da perda de cálcio na Técnica Laser de Er,Cr:YSGG com 5W, segundo Material e Tempo	115
Tabela 5.5 – Resultados inferenciais da comparação entre os Grupos no Tempo Total	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al_3O_4	Óxido de Alumínio
ARc	Alta-rotação
Bis-GMA	Bisfenol Glicidil Metacrilato
CaCl_2	cloreto de cálcio
CaF_2	fluoreto de cálcio
CIV	Cimento de Ionômero de Vidro
CIVRM	Cimento de Ionômero de Vidro Resino Modificado
CO_2	dióxido de carbono
cm	centímetro(s)
DES	Desmineralizadora
EEA	Espectrofotometria por emissão atômica
EDX	Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios X
Er,Cr:YSGG	érbio-cromo:ítrio-escândio-gálio-granada
Er:YAG	érbio:ítrio-alumínio-granada
Er:YSGG	érbio:ítrio-escândio-gálio-granada
FFA	Flúor fosfato acidulado
HEMA	Hidroxietil metacrilato
ICR	Instrumento Cortante Rotatório
J	Joule
J/cm^2	joule(s) por centímetro quadrado
KHN	<i>Knoop hardness number</i>
KCl	cloreto de potássio

KOH	hidróxido de potássio
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
ML	Microscopia de luz
MLP	Microscopia de luz polarizada
mm	milímetro(s)
mm ²	milímetro(s) quadrado(s)
mM	milimolar
mW	miliWatt
mW/cm ²	miliWatt por centímetro quadrado
NaH ₂ PO ₄	fosfato de sódio
Nd:YAG	neodímio:ítrio-alumínio-granada
nm	nanômetro(s)
n	Número
pH	logaritmo negativo da concentração hidrogeniônica (-log [H ⁺])
ppm	parte(s) por milhão
ppm/mm ²	parte(s) por milhão por milímetro quadrado
pps	pulso por segundo
RC	Resina Composta
REM	Remineralizadora
TCP	tri-cálcio-fosfato
A-TCP	alfa tri-cálcio-fosfato
B-TCP	beta tri-cálcio-fosfato
H ⁻	Íon hidroxila

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	grau(s) celsius
Ca	Cálcio
g	grama(s)
h	hora(s)
Hz	Hertz
kGy	KiloGray
L	Litro (s)
M	Molar
P	Fósforo
s	segundo(s) (de tempo)
W	watt(s)
α	Alfa
β	Beta
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	29
2 REVISÃO DA LITERATURA	32
2.1 Aspectos Relacionados à Doença Cárie	35
2.2 Os Lasers em Alta Intensidade	41
2.2.1 Os Lasers em Alta Intensidade na Odontologia	41
2.2.2. Os Lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG na prevenção da cárie dental	58
2.3 Os Materiais Restauradores na formação de lesões de cárie secundária	69
3 PROPOSIÇÃO	80
4 MATERIAL E MÉTODOS	81
4.1 Material	81
4.2 Métodos	86
4.2.1 Aspectos éticos.....	86
4.2.2 Preparo das amostras	87
4.2.2.1 seleção e preparo dos dentes permanentes.....	87
4.2.2.2 preparo das amostras para posterior confecção das cavidades	88
4.2.3 Confecção dos preparos cavitários	89
4.2.3.1 confecção dos preparos cavitários com ponta diamantada em alta rotação.....	89
4.2.3.2 confecção dos preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG	90

4.2.4 Restauração das cavidades	93
4.2.5 Imersão das amostras na solução desmineralizadora	97
4.2.6 Troca das soluções desmineralizadoras	99
4.2.7 Análise em lupa estereoscópica	101
4.2.8 Espectrofotometria de Emissão Atômica	102
4.2.8.1 princípios da espectrofotometria de emissão atômica	102
4.2.8.2 análise da quantidade de cálcio perdido por amostra	104
4.2.9 Análise Estatística.....	105
5 RESULTADOS	111
5.1 Análise descritiva das concentrações de cálcio perdido nas soluções desmineralizadoras pela espectrofotometria	111
5.2 Análise Inferencial das concentrações de cálcio perdido nas soluções desmineralizadoras nos diferentes grupos experimentais.....	115
5.2.1 Análise Inferencial entre Técnica e Material nos diferentes Tempos experimentais.....	115
5.2.2 Análise Inferencial da comparação entre os diferentes Tempos para cada grupo experimental	116
5.2.3 Análise Inferencial entre Técnica e Material no Tempo Total.....	119
6 DISCUSSÃO	129
7 CONCLUSÕES	166
REFERÊNCIAS	167
APÊNDICE	188
ANEXO	189

1 INTRODUÇÃO

A doença cárie é complexa, com fatores etiológicos relacionados ao hospedeiro; a microbiota; ao tipo e frequência de ingestão de carboidratos; condições sociais, econômicas, políticas, hábitos familiares e culturais; devendo-se analisar de forma criteriosa e global o paciente quanto ao risco e atividade da doença cárie nas dentições decídua e permanente para realização do diagnóstico clínico, e posterior tomada da mais indicada decisão da conduta terapêutica (FEJERSKOV; KIDD, 2005; KIDD; TOFFENETTI; MJÖR, 1992).

Durante os processos de desafio cariogênico há sucessivos episódios de trocas iônicas entre a estrutura dental e o meio bucal; com o predomínio dos processos de desmineralização haverá a formação da lesão de cárie, iniciando-se em alterações bioquímicas e ultra-estruturais, não detectáveis clinicamente, podendo atingir estágio de lesão incipiente no esmalte, sendo o sinal clínico da presença/atividade da doença cárie, com a continuidade e predomínio do processo de perda mineral, a lesão atinge a dentina, podendo levar a formação de cavitações (FEATHERSTONE; DUNCAN; CUTRESS, 1979; KIDD, FEJERSKOV, 2004).

Por seu caráter dinâmico, a doença cárie pode ser controlada e/ou paralisada em todos seus estágios e substratos, dentro das condutas de “miníma intervenção”, que visam mudar de uma abordagem curativa e invasiva, para uma que prioriza o controle dos fatores etiológicos da doença cárie e maior conservação da estrutura dental (FEATHERSTONE, 2000;

IMPARATO; ROCHA; RAGGIO, 2003; KIDD; FEJERSKOV, 2004; PETERS; McLEAN, 2001; SERRA; PIMENTA; PAULILLO, 1997).

Apesar do conhecimento e evidências científicas sobre a doença cárie e da comprovada efetividade dos métodos de prevenção e paralisação das lesões de cárie atualmente disponíveis, com grande acesso da população e baixo custo, como a remoção/desorganização mecânica do biofilme, motivação do paciente para higiene bucal e controle da dieta, uso racional e individualizado de fluoroterápicos; a presença de lesões de cárie secundárias adjacentes às restaurações ainda é freqüentemente observada e representa o sinal clínico da presença /atividade da doença cárie (HARA et al., 2002; HICKS et al., 2003; TEN CATE, 2004).

O íon flúor na forma de fluoreto de cálcio (CaF_2), fracamente ligado ao substrato dental, atua inibindo a desmineralização e ativando a remineralização do esmalte (FEATHERSTONE, 1999; FEATHERSTONE, 2000). Os métodos que utilizam produtos liberadores de fluoretos são altamente eficazes e consagrados na prevenção/paralisação de lesões incipientes de cárie (CURY et al., 2003; NEGRI; CURY, 2002;).

O desenvolvimento de novas tecnologias para prevenção/paralisação das lesões de cárie têm surgido ou aprimorando-se nos últimos anos, destacando a utilização da radiação laser de alta intensidade na Odontologia Restauradora (KAYANO et al., 1991; MORIOKA; TAGOMORI; OHO, 1991; NARA et al., 1990; WIGDOR et al., 1995).

Estudos mostram a efetividade do laser no aumento da resistência ácida do esmalte frente ao desafio cariogênico. Existem hipóteses que

tentam elucidar o mecanismo de ação do laser, que através de efeitos térmicos promovam alterações morfológicas e/ou químicas na estrutura dental irradiada (APFELBAUM; MAYER; FEATHERSTONE, 1990; BACHMANN; ZECELL, 2005; FOWLER; KURODA, 1986; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996).

Estudos futuros deverão ser realizados, em dentes decíduos e permanentes, avaliando a influência de diferentes parâmetros do laser de Er, Cr:YSGG, para prevenção/paralisação de lesões de cárie, remoção do tecido cariado e preparos cavitários, e sua interação com diferentes materiais restauradores e produtos fluoretados na perda mineral do esmalte e formação de lesões incipientes de cárie.

Do exposto, o presente trabalho tem por objetivo contribuir nesta linha de raciocínio estudando a avaliação da perda mineral do esmalte adjacente a cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG e restauradas com diferentes materiais após desafio ácido.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A Odontologia Restauradora por muitos anos, devido aos materiais restauradores existentes no mercado e o conhecimento a respeito da etiologia e progressão da doença cárie, foi baseada no exclusivo tratamento das lesões, isto é, dos sinais clínicos da doença cárie, com a invasão de sulcos e fissuras, remoção total do tecido cariado, realização de preparos cavitários extensos, seguindo os princípios da "extensão preventiva de Black" e posterior restauração da cavidade, sendo *condutas cirúrgico-restauradoras* frente à doença cárie.

A realização de diferentes estudos nas áreas de Cariologia, Microbiologia, Diagnóstico e Epidemiologia, associados a crescente prática e valorização de uma *Odontologia baseada em evidências científicas*, trouxeram embasamento para mudanças de paradigmas na Odontologia Restauradora, com a adoção de uma "Filosofia de Mínima Intervenção", baseada na prevenção, controle e tratamento da *Doença Cárie*.

A "Filosofia Invasiva" adotando um modelo "cirúrgico-restaurador" valoriza durante o exame clínico a localização e extensão das lesões de cárie, preocupando-se basicamente em tratar os sinais clínicos da doença cárie através de procedimentos restauradores (FEATHERSTONE, 1999; FEJERSKOV, 2004; IMPARATO; ROCHA; RAGGIO, 2003; PETERS; McLEAN, 2001; PITTS, 2004; SERRA; PIMENTA; PAULILLO, 1997).

O modelo de mínima intervenção valoriza a avaliação da atividade das lesões de cárie e o risco do paciente frente à doença cárie, buscando o controle dos fatores etiológicos, portanto, o controle da doença cárie e a máxima conservação da estrutura dental sadia remanescente (FEATHERSTONE, 2000; IMPARATO; ROCHA; RAGGIO, 2003; PETERS; McLEAN, 2001; PITTS, 2004; SERRA; PIMENTA; PAULILLO, 1997).

A doença cárie apresentou na maioria dos países, nos últimos anos, uma acentuada redução em crianças e adolescentes em função do uso de dentifrícios fluoretados, levando a uma mudança na prevalência e no padrão da doença (MENDES, 2005; RODRIGUES, 2003; ZERO, 1999).

Deve-se também destacar esta mudança no perfil da doença devido ao maior acesso pelos pacientes às informações de prevenção e controle da doença; realização de políticas públicas efetivas; adoção de hábitos e práticas de alimentação e vida mais saudáveis (BÖNECKER; SHEIHAM, 2004; CLARKSON; RAFTER, 2001; MENDES, 2005; MICKENAUTSCH et al., 2006; ZERO, 1999).

Quando da indicação clínica da realização de procedimentos invasivos e restaurações, os instrumentos cortantes rotatórios, em associação com os instrumentos manuais, é a única técnica que apresenta bases e evidências científicas para remoção do tecido cariado e realização de preparos cavitários, devendo na atualidade, sua utilização revisada e adaptada às novas condutas clínicas conservadoras de mínima intervenção (MICKENAUTSCH et al., 2006; PETERS; McLEAN, 2001).

O *modelo cirúrgico-restaurador* baseado somente no tratamento das manifestações clínicas da doença cárie, isto é das lesões, mostrou-se ineficiente, com o progressivo surgimento de lesões de cárie secundárias ou de novas lesões, estando o paciente dentro de um infundável "ciclo restaurador repetitivo" (ELDERTON, 1999; KIDD; TOFFENETTI; MJÖR, 1992).

Deve-se destacar o surgimento ou aprimoramento de novas tecnologias na Odontologia, como a utilização dos lasers em alta intensidade nos tecidos mineralizados dentais para prevenção e/ou paralisação de lesões incipientes de cárie, remoção do tecido cariado e realização de preparos cavitários conservadores previamente aos procedimentos adesivos (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; KAYANO et al., 1991; MATSUMOTO et al., 2002; PAGHDIWALA; VAIDYANATHAN; PAGHDIWALA, 1993).

Mais estudos laboratoriais, clínicos e de longa duração devem ser realizados, visando sanar muitas dúvidas e *trazer evidências científicas* para a utilização desta tecnologia, em comparação com as práticas existentes e propostas para prevenção e controle da doença cárie. Devendo-se observar o mecanismo de ação, os efeitos dos diferentes comprimentos de onda e protocolos de irradiação dos lasers e sua interação com produtos fluoretados e diferentes materiais restauradores em relação à perda mineral da estrutura dental, paralisação e formação de lesões de cárie secundária (FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996; HADLEY et al., 2000; HOSSAIN et al., 2001a; MORIOKA; TAGOMORI; NARA, 1989; OHO; MORIOKA, 1990; TAGOMORI; MORIOKA, 1989).

2.1 Aspectos relacionados à Doença Cárie

A cárie dental é uma doença multifatorial progressiva dos tecidos mineralizados dentais, apresenta *estágios iniciais subclínicos*, com alterações bioquímicas e ultra-estruturais do tecido mineralizado dental, podendo atingir *estágios clínicos*, com a manifestação visível da doença, através da formação de lesões incipientes no esmalte. Sem o controle dos fatores etiológicos da doença, esta progride podendo avançar e atingir a dentina, e levar a perda da integridade dental e formação de uma cavidade (CLARKSON, 1999; ZERO, 1999).

O esmalte dentário é o tecido mais duro e mineralizado do corpo humano, apresentando 95% em peso de conteúdo inorgânico (mineral) e 5% em peso de conteúdo orgânico e água (CLARKSON, 1999; MENDES, 2005; ZERO, 1999;).

O componente mineral principal do esmalte é a apatita, sendo que as encontradas nos organismos vivos geralmente são as hidroxiapatitas cálcicas, representadas pela fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$. No esmalte é detectada a incorporação de elementos menores como o carbonato (CO_3), magnésio, flúor, cloro, zinco, sódio, estrôncio entre outros (ARENDS; TEN CATE, 1981; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; KIDD; FEJERSKOV, 2004; LEGEROS, 1999; MENDES, 2005). Assim, as apatitas biológicas são descritas como hidroxiapatita carbonatada, representadas pela fórmula $[(\text{Ca}, \text{Mg}, \text{Na}, \text{X})_{10}(\text{PO}_4, \text{HPO}_4, \text{CO}_3)_6(\text{OH}, \text{Cl})_2]$ (LEGEROS, 1999).

O esmalte dental normal e hígido consiste no esmalte prismático, composto de cristais de hidroxiapatita com secção transversal hexagonal, que se estende desde a junção amelodentinária até a superfície dental, e esmalte interprismático; a diferença entre eles esta na orientação dos cristais (KATCHBURIAN; ARANA, 1999; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

Os cristais são separados entre si por espaços intercristalinos, preenchidos por água e material orgânico (enamelinas que são proteínas não colagenosas). Estes espaços formam uma rede de canais de difusão, denominados poros do esmalte, sendo que através desses poros ocorre a difusão dos íons pela estrutura do esmalte (KIDD; FEJERSKOV, 2004; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

O esmalte dental é um tecido acelular, que não se apresenta inerte na cavidade bucal, mas um *sistema químico ativo e dinâmico*, em constante troca iônica dos seus elementos com o meio bucal ao seu redor (ARENDS; TEN CATE, 1981; FEATHERSTONE, 2000; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; KIDD; FEJERSKOV, 2004; LEGEROS, 1999; MENDES, 2005).

No processo da formação da lesão de cárie deve-se observar que no pH próximo ao neutro, o meio bucal ao redor do dente (saliva, fluido da placa bacteriana e o líquido em volta dos cristais de hidroxiapatita) esta supersaturado em relação a hidroxiapatita do esmalte dental. Havendo uma incorporação de íons cálcio e fosfato pelo esmalte, sendo caracterizado o processo de remineralização (RE) (ARENDS; TEN CATE, 1981; FEATHERSTONE, 2000; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; LEGEROS, 1999).

Com a deposição de carboidratos fermentáveis (principalmente sacarose) na placa bacteriana dental e sua metabolização por microrganismos, há a produção de ácidos orgânicos (principalmente ácido láctico), levando a queda do pH, os íons hidrogênio dissolvem os minerais dos cristais, liberando cálcio e fosfato para o meio bucal. A partir daí, ocorre à inversão ou deslocamento do equilíbrio da reação química, tornando o meio bucal ao redor do dente (saliva, fluido da placa bacteriana e o líquido em volta dos cristais de hidroxiapatita) subsaturado em relação aos minerais do esmalte dental. Havendo saída de carbonato, cálcio e fosfato do esmalte para o meio ao redor, sendo caracterizado o processo de desmineralização (DES) (AREND; TEN CATE, 1981; FEATHERSTONE, 2000; FREITAS, 2005; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; KIDD; FEJERSKOV, 2004; LEGEROS, 1999; MENDES, 2005; ZERO, 1999).

O valor do pH que determina a inversão da direção da troca iônica entre o esmalte dental e o meio bucal, isto é, a entrada ou saída de íons, é o chamado pH crítico, sendo que este varia entre 5,3 e 5,5, e depende das concentrações de cálcio, fosfato e flúor no meio bucal e da solubilidade mineral nas diferentes regiões do dente (KIDD; FEJERSKOV, 2004; ZERO, 1999).

A dissolução do esmalte, inicialmente ocorre na periferia dos prismas, levando a sua redução de tamanho e aumento do espaço intercrystalino. A partir daí, criam-se maiores vias de difusão, facilitando a entrada dos ácidos do meio bucal para o dente, e a conseqüente dissolução e saída de íons do dente para o meio bucal, levando assim a maior perda mineral (KIDD; FEJERSKOV, 2004; ZERO, 1999).

Com a ação dos sistemas tampão presentes no meio bucal, principalmente saliva, há a neutralização dos ácidos orgânicos, elevação do pH acima do crítico, e torna o meio bucal e fluido da placa supersaturados em relação aos produtos de solubilidade da hidroxiapatita dental, levando a reposição de minerais perdidos (KIDD; FEJERSKOV, 2004; ZERO, 1999).

Quando os fatores etiológicos da doença cárie estão instalados, e não controlados clinicamente, há um *desequilíbrio* e predomínio dos processos de desmineralização em relação aos de remineralização, isto é, maior perda mineral que reprecipitação (AREND; TEN CATE, 1981; KIDD; FEJERSKOV, 2004; MENDES, 2005; ZERO, 1999).

O processo inicialmente leva a alterações ultra estruturais, não detectáveis clinicamente, e com progressão da perda mineral leva a sua manifestação clínica, através da formação de lesões incipientes de cárie ou lesões de mancha branca no esmalte, que com a continuidade do *desequilíbrio* pode avançar e atingir a dentina e até levar a cavitação (KIDD; FEJERSKOV, 2004; ZERO, 1999).

Os produtos fluoretados devem ser indicados de forma *racional e individualizada*, de acordo com o risco e atividade da doença cárie pelo paciente, em diferentes concentrações e veículos, como dentifrícios, enxaguatórios, géis, vernizes e materiais restauradores que liberam e se recarregam de flúor (CARVALHO; CURY, 1999; DELBEM; CURY, 2002; FREITAS, 2005; HICKS et al., 2003; SERRA, 1995).

Para sua ação anticariogênica, o íon flúor deve ter presença constante, em baixa concentração e alta frequência, no meio bucal (saliva,

fluido da placa bacteriana e do esmalte), para a formação de fluoreto de cálcio (CaF_2) à superfície dental e interior da placa bacteriana. Estes glóbulos de fluoreto de cálcio adsorvem fosfato de cálcio e proteínas salivares, formando uma camada de glóbulos insolúveis no pH neutro. Com a queda do pH, os glóbulos se tornam solúveis, havendo uma lenta dissolução e liberação de íons cálcio e flúor para o meio bucal, assim a camada de fluoreto de cálcio apresenta prolongada retenção, atuando portanto, como um reservatório de flúor para o meio bucal através da sua precipitação (CARVALHO; CURY, 1999; DELBEM; CURY, 2002; ELLWOOD; FEJERSKOV, 2005; FEATHERSTONE, 1999; RODRIGUES, 2002).

O mecanismo dinâmico do íon flúor leva a redução da taxa de desmineralização e aumento da remineralização, diminuindo o pH crítico necessário que ocorra a desmineralização do esmalte (deslocando o pH crítico para 4,5), apresentando *ações preventiva e terapêutica em relação à cárie dental*, reduzindo a incidência de lesões iniciais ou secundárias e a severidade destas, atuando no controle/paralisação das lesões de cárie ativa, e diminuindo a probabilidade de uma lesão avançar até atingir a sua cavitação, assim tendo um importante papel "curativo" impedindo a progressão das lesões presentes (CARVALHO; CURY, 1999; DELBEM; CURY, 2002; SERRA, 1995; RODRIGUES, 2002).

O íon flúor tem sua ação dependente das suas concentração e frequência de exposição ao meio bucal, padrão de ingestão de sacarose pelo paciente, frequência e duração dos ciclos de desmineralização, fluxo salivar, pH da placa bacteriana e a sua desorganização e/ou remoção.

Estando sua ação limitada em situações de alto desafio cariogênico, quando o pH atinge abaixo de 4,5, mesmo na presença de fluoreto de cálcio no meio bucal e interior da placa bacteriana, haverá o predomínio do processo de desmineralização da estrutura dental e formação de lesão (CARVALHO; CURY, 1999; DELBEM; CURY, 2002; ELLWOOD; FEJERSKOV, 2005; KIDD; FEJERSKOV, 2004; RODRIGUES, 2002; RODRIGUES, 2003; SERRA, 1995).

Para o desenvolvimento de uma lesão de cárie diferentes modelos experimentais tentam mimetizar uma situação mais próxima das condições clínicas, havendo um processo físico-químico dinâmico, com constantes trocas minerais entre os tecidos duros dentais e o meio bucal. Diferentes modelos experimentais são descritos na literatura (FEATHERSTONE, 1996), visando determinar a perda mineral, a resistência ácida e possível capacidade de remineralização do esmalte (ARGENTA; TABCHOURY; CURY, 2003; MENDES, 2005; RODRIGUES, 2003; TASHIMA, 2006).

Pode-se destacar os modelos de desafio cariogênico *in situ*, *in vivo* (com modelos animais ou dentes que serão posteriormente extraídos), *in vitro* com a imersão das amostras em meio de cultura de bactérias acidogênicas, ou utilização de gelatina acidificada com ácido láctico (incorporado na gelatina ou depositado sobre esta) (pH entre 4,25 – 4,5) (FLAITZ et al., 1995; ISSA et al., 2003; WESTERMAN et al., 2002) ou uso de soluções ácidas (tampão lactato ou acetato), com as concentrações de cálcio e fosfato subsaturadas em relação aos fluídos bucais (pH entre 4,5- 4,6- 4,8) (CECCHINI, 2001; MENDES, 2005; TEN CATE; DUIJSTERS, 1982) ou ainda modelos dinâmicos com sistemas de ciclagem de pH.

A partir do modelo dinâmico de ciclagem de pH desenvolvido por Ten Cate e Duijsters (1982) e modificado por Featherstone et al. (1985), vários outros modelos de formação de lesão de cárie foram adaptados e estudados. Nos modelos experimentais podem variar os ácidos utilizados e suas concentrações, o pH a ser ajustado, o período de tempo de imersão nas soluções, o número de ciclos, agentes protetores de superfície e tampão empregado, associação ou não com flúor, entre outras variações metodológicas (FEATHERSTONE et al., 1985; FEATHERSTONE, 1996; MENDES, 2002, 2005; RODRIGUES, 2003; TEN CATE; DUIJSTERS, 1982).

2.2 Os lasers em alta intensidade

2.2.1 Os lasers em alta intensidade na Odontologia

A prática de uma Odontologia “baseada em evidências científicas” mostra a efetividade dos métodos disponíveis e largamente empregados há muitos anos para a prevenção e controle/paralisação da doença cárie, com o *controle dos fatores etiológicos*, através de medidas de orientação e motivação de higienização bucal e hábitos de dieta saudáveis, e *uso racional e individualizado de fluoterápicos*, (FEATHERSTONE, 1999; BÖNECKER; SHEIHAM, 2004; KIDD; FEJERSKOV, 2004; MENDES, 2005; MICKENAUTSCH et al., 2006; RODRIGUES, 2002).

Apesar disso, outros métodos alternativos têm surgido, visando complementar ou potencializar os resultados já obtidos com as técnicas propostas e consagradas na literatura. Dentro deste contexto, os Lasers em alta intensidade aparecem como uma alternativa para o aumento da resistência ácida do esmalte, redução da perda mineral e menor formação das lesões de cárie (ANA, 2007; BACHMANN; ZECELL, 2005; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; TASHIMA, 2006; TAGOMORI; MORIOKA, 1989; WATANABE et al., 1998).

O acrônimo LASER é composto pelas iniciais de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* que significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. Em 1917, Albert Einstein postulou, através de cálculos matemáticos, a emissão estimulada de radiação eletromagnética; porém apenas em 1960, Theodore Maiman desenvolveu o primeiro laser utilizando um cristal de rubi (BACHMANN; ZECELL, 2005; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; WIGDOR et al., 1995).

Através de estudos, novos lasers foram desenvolvidos por físicos, buscando uma nova tecnologia de tratamento em diferentes áreas na Medicina e Odontologia, destacando-se nos anos 60 os lasers de Nd:YAG (neodímio: ítrio, alumínio, granada), de argônio e de dióxido de carbono (CO₂). Mais tarde nos anos 80 e 90 desenvolveram-se os lasers de Ho:YAG (hólmio: ítrio, alumínio, granada), diodos semicondutores e o de Er:YAG (érbio: ítrio, alumínio, granada) e Er,Cr:YSGG (érbio, cromo: ítrio, escândio, gálio, granada). Esses diferentes comprimentos de onda apresentam variadas interações com os tecidos biológicos. As características de

absorção de cada comprimento de onda e as propriedades ópticas e térmicas do tecido alvo a ser irradiado determinam os lasers mais indicados, efetivos e viáveis clinicamente para os diferentes procedimentos clínicos, tanto em tecidos moles quanto em tecidos duros; sendo assim pode-se afirmar que *não existe o melhor laser, mas, o mais indicado para cada procedimento* (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004).

Os primeiros estudos que utilizaram os lasers com emissão em alta intensidade para prevenção da cárie dental são da década de 60. Foi utilizado o laser de rubi (693nm) mostrando sua eficácia no aumento da resistência ácida do esmalte, porém, com alto risco de dano pulpar e alterações no esmalte, como trincas e carbonização, devido à alta densidade de energia necessária para promover esse efeito (FEATHERSTONE, 2000).

Estudos realizados com lasers de argônio (488nm) e CO₂ (9600 e 10600nm) mostram resultados favoráveis na redução da permeabilidade e da solubilidade do esmalte irradiado, após ser submetido a diferentes modelos de desafio cariogênico (FEATHERSTONE et al., 1998; FLAITZ et al., 1995; KLEIN et al., 2005; NOBRE dos SANTOS; FEATHERSTONE; FRIED, 2001; RODRIGUES et al., 2004; STEINER-OLIVEIRA et al., 2006; WESTERMAN et al., 2002).

Em especial deve-se destacar o laser de CO₂ (9600 e 10600nm) que apresenta resultados efetivos, devido a sua alta absorção pela água e o carbonato da hidroxiapatita, em especial o laser de CO₂ 9,6µm que apresenta resultados favoráveis e aplicações clínicas futuras promissoras na

prevenção da cárie dental. Sendo necessária a realização de estudos *in situ* e clínicos para embasar a aplicação deste comprimento de onda na prevenção da cárie dental (FEATHERSTONE et al., 1998; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; KLEIN et al., 2005; NOBRE dos SANTOS; FEATHERSTONE; FRIED, 2001; RODRIGUES et al., 2004; STEINER-OLIVEIRA et al., 2006).

Estudo de Nobre dos Santos, Featherstone e Fried (2001), utilizando o laser de CO₂ pulsado (9,6 µm) na superfície do esmalte íntegro e desmineralizado, após realização de alto desafio cariogênico mostrou pela microrradiografia uma porcentagem de inibição de 49% a 76% da progressão de lesões de cárie após irradiação associada à aplicação tópica de flúor, contra 35% a 42% de inibição após irradiação somente com o laser, mostrando o sinergismo entre o laser e o íon flúor, como efetiva ferramenta na proteção contra a progressão da carie dental no esmalte.

Avaliando a formação de lesões secundárias de cárie, Klein et al. (2005) irradiaram com laser de CO₂ (10600nm) as margens de preparos cavitários realizados com alta-rotação, restaurados com resina composta e submetidos à ciclagem de pH. Foi observado pela MEV a fusão e derretimento do esmalte das margens das restaurações. A análise de microdureza de secção longitudinal e perda mineral mostraram que o sistema adesivo não teve nenhum efeito na inibição da perda mineral do esmalte marginal, e o laser foi efetivo, nos diferentes grupos e profundidades avaliadas (50 e 100 µm) em inibir a perda mineral no esmalte adjacente as restaurações de resina composta.

Em 2006, Steiner-Oliveira et al. avaliaram os efeitos térmicos da irradiação da superfície do esmalte hígido, com diferentes parâmetros do laser de CO₂ (10600nm), após ciclagem de pH. As análises em espectroscopia FT-Raman e MEV indicam que fluências acima de 6 J/cm² promovem alterações químicas e morfológicas e acima de 10 J/cm² levam a redução da perda mineral no esmalte irradiado. Em outro estudo, Steiner-Oliveira (2006) avaliou os efeitos do laser de CO₂ (10600nm), associado ou não com dentifrício e enxaguatório fluoretado, em lesões incipientes de cárie no esmalte, concluindo que todas as terapias, exceto a combinação do laser com o enxaguatório, foram capazes de promover a remineralização do esmalte pela análise em microscopia de luz polarizada e na microdureza da secção longitudinal das lesões no esmalte, com 48 a 60% de redução da progressão da desmineralização.

Avaliando o potencial preventivo de outros comprimentos de onda, estudos foram realizados com o laser de diodo em alta intensidade, em MEV observam-se áreas de fusão e ressolidificação (efeitos foto térmicos) (KATO, 2004; OLIVEIRA et al., 2001; WETTER et al., 2002), porém pode-se verificar que os parâmetros que sugeriram resultados mais favoráveis quanto à redução da perda mineral, seriam elevados e inviáveis na prática clínica, quanto à vitalidade pulpar e alterações iatrogênicas na estrutura mineral (KATO, 2004; SANTAELLA et al., 2004).

O laser de Nd:YAG (1064nm) apresenta fortes evidências na literatura com resultados favoráveis na prevenção de lesões de cárie. A partir da irradiação do esmalte, se atingem temperaturas acima do limiar de fusão e

vaporização dos componentes da hidroxiapatita carbonatada (1100-1200°C), seguido de rápido declínio da temperatura, levando a ressolidificação e vitrificação do esmalte, com vedamento dos poros e redução da sua permeabilidade. Tais alterações foto térmicas levam a uma reorganização morfológica da estrutura cristalina da hidroxiapatita e alterações químicas na estrutura do mineral, com formação de novos compostos menos solúveis (APFELBAUM; MAYER; FEATHERSTONE, 1990; CECCHINI et al. 1998; CECCHINI, 2001; FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 2001b; MORIOKA; TAGOMORI; NARA, 1989; TAGOMORI; MORIOKA, 1989).

O aumento da resistência ácida do esmalte íntegro foi observado após uso de laser de Nd:YAG, em associação ou não à aplicação de fluoreto, e em associação com corantes fotoabsorvedores escuros como carvão ou nanquim, após diferentes modelos de desafio cariogênico, sendo realizadas análises em microscopia de luz polarizada, microdureza de superfície e secção longitudinal, energia dispersiva de raios-X, espectrofotometria de emissão atômica (CECCHINI et al. 1998; CECCHINI, 2001; HOSSAIN et al., 2001b).

O laser de Er:YAG, com comprimento de onda de 2940nm, coincide com o um dos picos de absorção da água na natureza, apresentando alta absorção pela água presente nos tecidos mineralizados (a água livre que circunda os cristais de hidroxiapatita formando a película de hidratação e fluído dentinário tubular e intertubular), enquanto o laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda de 2780nm, apresenta alta absorção pela água e principalmente pelo radical OH^- (hidroxila) presente na hidroxiapatita nos

tecidos mineralizados (ANA, 2007; APEL et al., 2002b; BACHMANN; ZECELL, 2005; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996; HADLEY et al., 2000; HIBST; KELLER, 1989).

A utilização do laser de Er:YAG para realização de preparos cavitários teve sua aprovação, em dentes permanentes em 1997 e em dentes decíduos na Odontopediatria em 1999, pela Food and Drug Administration (FDA), nos Estados Unidos, sendo o primeiro comprimento de onda aprovado para este procedimento, com segurança e efetividade. Em 1998, o laser de Er,Cr:YSGG foi aprovado para preparos cavitários em dentes permanentes, e em 1999 em dentes decíduos pela FDA (COZEAN et al., 1997; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004).

A utilização dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG com *parâmetros sub-ablativos*, atingem aumentos de temperatura e efeitos *foto térmicos* que levam a alterações ultra-estruturais nos tecidos mineralizados dentais. De acordo com a literatura, tais alterações de natureza morfológica e/ou química podem levar ao aumento da resistência ácida e possíveis efeitos preventivos à formação da lesão de cárie na estrutura dental, embora não esteja ainda elucidado o mecanismo de ação e os parâmetros de irradiação, que levam a menor perda mineral após a irradiação, sendo fundamental a realização de mais estudos, com diferentes metodologias e protocolos (ANA, 2007; BEVILACQUA, 2002; CECCHINI, 2001; FREITAS, 2005; HOSSAIN et al., 2000; HOSSAIN et al., 2001a; STABHOLZ et al., 2003; TASHIMA, 2006; WATANABE et al., 1998).

No *processo termo-mecânico de ablação* são utilizados parâmetros que levam a maiores aumentos da temperatura na superfície do esmalte,

atingindo o limiar de ablação do tecido mineral em temperaturas e densidades de energia por volta de 300°C (7J/cm²) podendo atingir 1000°C (9J/cm²) para o laser de Er:YAG e por volta de 800°C (18J/cm²) para o laser Er,Cr:YSGG. Estas temperaturas por sua vez estão bem abaixo da temperatura de fusão e vaporização dos componentes minerais da hidroxiapatita carbonatada (1100-1200 °C) (FRIED et al., 1996).

Os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG, com os parâmetros indicados, promovem a efetiva remoção (ablação) do tecido cariado, realização de preparos cavitários para materiais restauradores adesivos (adequações cavitárias sem definição de paredes ou ângulos), tratamento dos tecidos mineralizados nos casos de erosão, abfração, fraturas e recuperação de guias, ou redução microbiana pós preparos cavitários convencionais (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; STABHOLZ et al., 2003).

Devido sua alta absorção pela água, e diferença nas concentrações desta entre os tecidos cariado infectado, afetado e hígido, e entre o esmalte, a dentina e o cemento, e utilizando parâmetros controlados observa-se uma *seletividade* de remoção tecidual, de forma localizada e pontual na área irradiada (APEL et al., 2002b; BACHMANN; ZECELL, 2005; FRIED et al., 1996; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; HADLEY et al., 2000; HIBST; KELLER, 1989; HOSSAIN et al., 2002a, 2003; KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003; LI; CODE; DE MERWE, 1992; MATSUMOTO et al., 2002; WIGDOR et al., 1993).

No processo de ablação termo-mecânica, a energia eletromagnética destes comprimentos de onda laser, ao interagir com o tecido mineral é absorvida pela água, principalmente a intersticial nas porções superficiais do

tecido, levando a concentração de calor e aumento de temperatura na superfície. Há a vaporização da água, expansão volumétrica e aumento da pressão intra-tecidual, e a partir daí, ondas mecânicas (acústicas) que levam às microexplosões e ejeção do tecido irradiado (BACHMANN; ZECELL, 2005; BURKES JR et al., 1992; EVERSOLE; RIZOIU, 1995; FRIED et al., 1996; HIBST; KELLER, 1989; HOSSAIN et al., 1999; PAGHDIWALA; VAIDYANATHAN; PAGHDIWALA, 1993; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996; WIGDOR et al., 1993).

A energia necessária para que ocorra tal processo, se concentra na superfície do tecido, sendo consumida no próprio processo termo-mecânico de ablação, e a energia residual é liberada durante as microexplosões e ejeção do tecido mineral como observado em análises com câmaras termográficas (FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; GERALDO-MARTINS et al., 2005; TANJI, 2002).

A refrigeração com *spray* de ar-água durante o processo de ablação com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG tem um importante papel, não somente na redução da temperatura, mas principalmente em tornar mais efetivo o processo de ablação, pela formação de uma fina película de água na superfície do tecido (APEL et al., 2002a; BURKES JR et al., 1992; FRIED et al., 1996; GERALDO-MARTINS, 2007; GERALDO-MARTINS et al., 2005; HIBST; KELLER, 1989; PAGHDIWALA; VAIDYANATHAN; PAGHDIWALA, 1993; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996).

De acordo com o fabricante, o *Waterlase* promove a remoção tecidual pelo mecanismo de ablação e pelo processo hidrocínético (*hydrokinetic system*), neste as partículas atomizadas e altamente

energizadas de água tem ação de corte tecidual, o laser de Er,Cr:YSGG tem comprimento de onda altamente absorvido pelas moléculas de água, do *spray* e presente no tecido alvo, ativando o radical hidroxila das micropartículas de água, levando a uma rápida e violenta microexplosão, gerada por forças mecânicas na superfície do tecido alvo, havendo grande concentração de energia e poder de corte entre a ponta da fibra (cristal de safira) e a superfície alvo, gerado pela ação hidrocínética das partículas de água atomizadas (ANA, 2007; ARANHA et al., 2007; EVERSOLE; RIZOIU, 1995; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; GERALDO-MARTINS, 2007; HADLEY et al., 2000; HARASHIMA et al., 2005; HOSSAIN et al., 1999; KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003; YU et al., 2000).

Análises histológicas do tecido pulpar, em câmaras termográficas e termopares, em dentes irradiados pelos lasers de Er:YAG (BURKES JR et al., 1992; COZEAN et al., 1997; GERALDO-MARTINS et al., 2005; PAGHDIWALA; VAIDYANATHAN; PAGHDIWALA, 1993; PELAGALLI et al., 1997; STABHOLZ et al., 2003; TANJI, 2002; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996; WIGDOR et al., 1993) e Er,Cr:YSGG (ANA, 2007; FREITAS, 2005; GERALDO-MARTINS, 2007; HOSSAIN et al., 2002b; RIZOIU et al., 1998), quando foram utilizados adequados parâmetros de energia e de refrigeração ar-água determinados por estudos prévios, mostraram a ocorrência de alterações histológicas na polpa semelhantes quando da utilização da alta-rotação, mantendo a organização e vitalidade do tecido pulpar, por sua vez, o aumento de temperatura com os lasers foi inferior ao observado pelos instrumentos rotatórios convencionais (COZEAN et al., 1997; GERALDO-MARTINS et al.,

2005; PELAGALLI et al., 1997; STABHOLZ et al., 2003; TANJI, 2002; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996; WANG; MATSUMOTO, 2005), não sendo observado aumento da temperatura pulpar acima que 5,5°C, estando dentro do limite de segurança para manutenção da vitalidade pulpar como determinado por estudo de Zach e Cohen (1965).

De acordo com a literatura, com o laser de Er,Cr:YSSG para preparos cavitários em esmalte são indicadas potências entre 5 a 6W, por sua vez, devido à maior concentração de água na dentina e tecido cariado, os parâmetros são inferiores aos utilizados no esmalte, sendo observadas potências entre 3 a 5W; quanto a refrigeração não há um consenso nos protocolos, variando de 60 a 100% de ar e 50 a 80% de água (ANA, 2007; ARANHA et al., 2007; EVERSOLE; RIZOIU, 1995; EVERSOLE; RIZOIU; KIMMEL, 1997; RIZOIU et al., 1998; FREITAS, 2005; GERALDO-MARTINS, 2007; HADLEY et al., 2000; HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002b; HOSSAIN et al., 2003; KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003; MATSUMOTO et al., 2002; WANG; MATSUMOTO, 2005).

Avaliando os efeitos de diferentes parâmetros do laser de Er:YAG, na ablação e morfologia do esmalte e da dentina, Corona et al. (2007b) e Corona et al. (2007a) respectivamente, realizaram a pesagem dos fragmentos dentais, depois os tratamentos superficiais com laser utilizando diferentes parâmetros de energia (200, 250, 300, 350mJ) e taxa de repetição (2, 3, 4Hz), e a pesagem final das amostras. Foi observado pelos estudos que o aumento da energia ou principalmente da taxa de repetição de pulsos promoveu o aumento da ablação e maior perda de massa dental; o

aumento da taxa de repetição levou as maiores alterações morfológicas e topográficas, sendo observadas pelas fotomicrografias em MEV, áreas de fusão, fissuras e ablação profunda e não seletiva. O padrão morfológico mostra superfícies com ausência da *smear layer*, irregulares, como “escamas”, exposição dos prismas de esmalte, abertura dos túbulos dentinários. No esmalte os parâmetros de 350mJ/3Hz e na dentina 250-300mJ/3Hz promoveram os melhores padrões morfológicos de superfície. Como observados nos estudos de Cecchini (2001), Corona et al. (2003), Freitas et al. (2007), Mello et al. (2006), Navarro (2001) e Tanji (2002), utilizando o laser de Er:YAG, ou por Geraldo-Martins (2007), Harashima et al. (2005), Hossain et al. (1999), Hossain et al. (2002a), Hossain et al. (2002b), Lin et al. (1998) e Sievers et al. (1992) utilizando laser de Er,Cr:YSGG.

Em estudo realizado por Geraldo-Martins, em 2007, foi avaliada a remoção do tecido cariado, em lesões induzidas por modelo microbiológico na superfície radicular, e a microinfiltração em cavidades preparadas com instrumento cortante rotatório e com laser Er,Cr:YSGG, com diferentes parâmetros, e restauradas com sistema adesivo auto-condicionante e resina composta. As análises das fotomicrografias, pela ML mostraram maior quantidade de tecido cariado remanescente nas cavidades preparadas com laser com menores (1,0 e 1,25W) e maiores parâmetros (3,75 e 4,0W) e diminuição da área de dentina afetada nos parâmetros intermediários (1,5 a 3,5W), enquanto com o ICR foram observadas ausência de tecido cariado remanescente, houve uma forte correlação positiva entre a quantidade de tecido cariado remanescente e o grau de microinfiltração, sendo que nas

cavidades com ICR houve menor infiltração marginal, em comparação, as cavidades preparadas com laser.

Estudo de Hossain et al. (2002a) mostrou que o laser de Er,Cr:YSGG promoveu efetiva ablação do tecido cariado e dentina de dentes decíduos, com 3W/20Hz/70% ar e 20% água, usando o Diagnodent como mensuração. A avaliação da temperatura pela câmara termográfica mostrou aumento de 2,20°C para o laser e 1,72°C para o ICR, sem diferenças significantes, e em ambos os casos valores abaixo do crítico. A análise atômica por MEV e EDX mostrou aumento significativo nas concentrações (% em peso) de cálcio e fósforo nas superfícies irradiadas, em comparação as tratadas com ICR, porém a relação cálcio/fósforo foi mantida em ambas as técnicas. Tal elevação é justificada pelo aumento de temperatura e redução/degradação dos constituintes orgânicos na dentina irradiada. Não foram observadas diferenças significantes na microdureza Knoop, no assoalho cavitário dos preparos com laser ou ICR. Tais resultados nas concentrações de cálcio e fósforo foram similares em outro estudo de Hossain et al. (2003), com laser de Er:YAG em dentina de dentes permanentes, no estudo de Cecchini (2001) no esmalte de dentes permanentes, e no estudo de Yu et al. (2000) com laser de Er,Cr:YSGG no esmalte e dentina de dentes permanentes, enquanto estudo de Kimura et al. (2001) mostrou não haver diferenças nas concentrações minerais na dentina das áreas irradiadas e controle.

A durabilidade clínica de uma restauração, a ocorrência de microinfiltração marginal, a recidiva de lesão de cárie, são altamente

dependentes das propriedades dos materiais restauradores, e sua interação com a estrutura dental preparada. São vários fatores inerentes ou não ao operador, controláveis ou não durante o procedimento restaurador, e após a restauração estar terminada e submetida aos desafios mecânicos, térmicos, cariogênicos (DOMINGUES, 2003; KLEIN et al., 2005; GERALDO-MARTINS, 2007).

Estudo realizado por Borsatto et al. (2001), em molares permanentes, e Borsatto et al. (2004), em molares decíduos, avaliando a microinfiltração em preparos cavitários realizados com laser de Er:YAG, mostraram menores valores de microinfiltração na interface dente/selante nos sulcos tratados com laser e condicionamento ácido ou somente o ácido fosfórico, sendo que o tratamento somente com o laser promoveu os maiores valores de infiltração, não substituindo ou dispensando o condicionamento ácido prévio a materiais adesivos.

Comparando diferentes técnicas de preparo cavitário, Borsatto et al. (2006) observaram maior microinfiltração nas cavidades preparadas com laser de Er:YAG, em comparação as cavidades preparadas com alta-rotação ou abrasão a ar, sendo todas as cavidades tratadas com ácido fosfórico previamente a aplicação do sistema adesivo e da resina de alta fluidez.

Em estudo de Chinelatti et al. (2004) foi observada maior microinfiltração do traçador nitrato de prata nas cavidades preparadas com laser de Er:YAG, tratadas ou não com ácido poliacrílico 40% e restauradas

com CIVRM, em comparação as cavidades preparadas com alta-rotação e tratadas com o ácido poliacrílico.

No estudo de Mello et al. (2006) foi avaliada a remoção de lesões de cárie radicular, induzidas por modelo microbiológico, e preparo cavitário com o laser de Er:YAG (250mJ/4Hz ou 250mJ/4Hz + 60mJ/2Hz) e alta-rotação, e restauradas com CIV convencional e CIVRM. Foi observada menor infiltração nas cavidades preparadas com o laser de Er:YAG (250mJ/4Hz) e restauradas com o CIVRM em comparação com o CIV convencional.

Hossain et al. (2002a) avaliaram a microinfiltração em cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG (20Hz, 6W, 100% ar, 32% água no esmalte/ 20Hz, 3W, 70% ar, 20% água na dentina), ou ICR e restauradas com resina composta em dentes decíduos. Somente as cavidades preparadas com ICR foram condicionadas com ácido fosfórico. A avaliação da microinfiltração por escores mostrou não haver diferenças significantes entre as técnicas de preparo cavitário. O laser, nos parâmetros utilizados, mostrou-se seguro, com temperatura superficial média de 4°C, e efetivo na remoção da estrutura dental decídua e preparos cavitários. As fotomicrografias em MEV mostraram, após irradiação laser, morfologia com ausência da *smear layer*, micro irregularidades, exposição dos prismas de esmalte e túbulos dentinários, com protrusão dos túbulos dentinários devido maior remoção da dentina intertubular.

Comparando a microinfiltração em cavidades preparadas com lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG e com alta-rotação em dentes bovinos, estudo de Moldes (2003) mostrou na margem incisal, em esmalte, reduzidos escores de

infiltração e não haver diferenças entre as técnicas de preparo e sistemas adesivos; na margem gengival, em cimento, foram observados maiores escores, nos preparos com ICR menor infiltração quando foi utilizado condicionamento ácido e sistema adesivo de frasco único, enquanto nos preparos com lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG reduzida infiltração com a utilização do sistema adesivo autocondicionante.

Aranha et al. (2007) observaram por fotomicrografias em MEV a maior formação de fendas na interface dente/sistema adesivo, após tratamento dentinário com os lasers de Er:YAG ou Er,Cr:YSGG, em comparação com instrumento cortante rotatório, sugerindo maior degradação do colágeno pelo efeito térmico dos lasers, sendo observada formação de camada híbrida de menor espessura com os lasers em comparação com ICR, os *tags* foram mais pronunciados com laser, a hibridização foi similar entre os lasers, exceto com laser de Er,Cr:YSGG e adesivo auto-condicionante que foi observada a não formação de camada híbrida típica.

Os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG, utilizando parâmetros ablasivos, promovem alterações morfológicas como ausência de *smear layer*, exposição dos prismas de esmalte e abertura parcial ou total dos túbulos dentinários, irregularidade superficial, criando um padrão morfológico micro retentivo, achados morfológicos similares também foram descritos por estudos realizados com laser de Er:YAG, por Cecchini (2001), Corona et al. (2007a, 2007b), Freitas et al. (2005), Hossain et al., 2000; Mello et al. (2006), Navarro (2001), Tanji (2002), Visuri, Walsh Jr e Wigdor (1996) e Wigdor et al. (1993); e por estudos realizados com laser de Er,Cr:YSGG, por Aranha et al.

(2007), Geraldo-Martins (2007), Harashima et al. (2005), Hossain et al. (1999), Hossain et al. (2002a), Kinoshita, Kimura e Matsumoto (2003) e Yu et al. (2000).

Avaliando o potencial de ablação do laser de Er,Cr:YSGG, estudo de Hossain et al. (1999), em esmalte e dentina, com diferentes protocolos de irradiação (67,9 J/cm² e 33,9 J/cm², com e sem *spray* de água), mostraram que independente do uso ou não da água durante a irradiação, houve efetiva ablação do tecido mineralizado, a profundidade de ablação foi maior na presença de água, e o uso do laser na ausência de refrigeração levou a formação de áreas com carbonização. A MEV revelou predomínio de ablação com refrigeração de água, e áreas de fusão na ausência da água.

Estudos clínicos mostram a aceitação e viabilidade do uso dos lasers com comprimento de onda em torno de 3µm, para remoção do tecido cariado e preparos cavitários, devido à ausência de contato e vibração da luz laser com o tecido alvo, substituição do temível ruído da alta-rotação pelo *popping* da ablação explosiva, redução da sensibilidade dolorosa, devido ao mecanismo termo mecânico de ablação explosiva, que promove à manutenção da pressão hidrostática pulpar, desencadeando a remoção tecidual pelo aquecimento e ejeção do tecido irradiado (BURKES Jr et al., 1992; FRIED et al., 1996; HIBST; KELLER, 1989; PAGHDIWALA; VAIDYANATHAN; PAGHDIWALA, 1993; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996).

Quanto à aceitabilidade, em se tratando de pacientes infantis, é de fundamental importância a realização do condicionamento psicológico e gerenciamento do comportamento infantil, para se obter os melhores

resultados, e tornar o tratamento menos traumático possível (BOJ et al., 2005; COZEAN et al., 1997; DEN BESTEN et al., 2000; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; HADLEY et al., 2000; MATSUMOTO et al., 2002; PELAGALLI et al., 1997).

Hadley et al. (2000), em estudo clínico com 68 pacientes com lesão de cárie, o laser de Er,Cr:YSGG foi utilizado, com parâmetros de 5,5 a 6,0W para esmalte e 4,0 a 5,0W para dentina, e avaliado o desconforto dos pacientes durante e após o tratamento. Foi observado que 98,5% dos pacientes não apresentaram desconforto durante e 24h após o tratamento; após dois dias e seis meses do tratamento todos os dentes apresentaram manutenção da vitalidade pulpar e ausência de desconforto. Concluindo que o laser de Er,Cr:YSGG, utilizado com os parâmetros seguros e efetivos determinados pela literatura, são efetivos, precisos e seguros para realização do preparo cavitário, com grande índice de satisfação e conforto dos pacientes tratados, como também observado nos estudos clínicos de Matsumoto et al. (2002) e Boj et al. (2005) com crianças e laser de Er,Cr:YSGG.

2.2.2 Os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG na prevenção da cárie dental.

A utilização dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG na estrutura dental, com *parâmetros sub-ablativos*, atingem aumentos de temperatura que promovem efeitos *foto térmicos*, e a partir destes, alterações químicas e/ou morfológicas, podendo até ocorrer fusão e resolidificação. De acordo com

alguns estudos, há possibilidade de tais alterações levarem ao aumento da resistência ácida, redução da permeabilidade do esmalte, menor formação de lesões de cárie no esmalte íntegro, paralisação ou redução da extensão das lesões ativas em esmalte (ANA, 2007; APEL et al., 2002b; APEL et al., 2004; BEVILACQUA, 2002; CECCHINI, 2001; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 2000; TASHIMA, 2006; WATANABE et al., 1998).

Nara et al. (1990) avaliaram a resistência ácida do esmalte irradiado com laser de Er:YAG, com diferentes parâmetros, a partir das concentrações de cálcio liberado do esmalte na solução de ácido perclórico, pela espectrofotometria de absorção atômica foi observada redução da dissolução do esmalte com radiâncias de 55 a 130J/cm².

Kayano et al. (1991) observaram a capacidade de ablação da estrutura dental pelo laser de Er:YAG, e ácido resistência do esmalte marginal das cavidades preparadas, após imersão das amostras em solução de tampão lactato (pH 4,5), e avaliação pela microradiografia.

Estudo realizado por Fried et al. (1996) avaliaram o potencial dos *lasers* de Er:YAG (2940nm) e Er:YSGG (2790nm) na prevenção da cárie dental. Foi observado com o laser de Er:YAG o limiar de ablação em aproximadamente 300°C (7J/cm²), podendo atingir até 1000°C (9J/cm²). Com o laser de Er:YSGG foi detectado limiar de ablação em 800°C (18J/cm²), mostrando que uma maior energia é necessária para promover a ablação da estrutura dental com o *laser* de Er:YSGG, devido a sua maior interação pelo íons hidroxila presentes no cristal de hidroxiapatita. As temperaturas com ambos os lasers, com parâmetros ablasivos, estão abaixo do limiar de fusão

da hidroxiapatita (1000-1200°C), podendo em determinados protocolos de irradiação e refrigeração atingir, e até ultrapassar este limiar, levando a áreas localizadas de fusão e ressolidificação da estrutura dental.

Após o desafio ácido foi realizada mensuração da microdureza de secção longitudinal das lesões formadas, e observada inibição na formação de lesões de cárie entre 25 a 60% (7,8 a 13J/cm²) com laser de Er,Cr:YSGG, e em torno de 40% (8 a 12J/cm²) com Er:YAG, abaixo dos limiares de ablação. É levantada a hipótese que os efeitos foto térmicos, abaixo do limiar de fusão (1000-1200°C), são responsáveis pelas alterações composicionais e ultra-estruturais, como redução da água e carbonato (entre 100-400°C), mudanças na permeabilidade, com redução dos poros, e da cristalinidade intrínseca do mineral, com formação de compostos de hidroxiapatita menos solúveis.

Avaliando a formação de lesões de cárie ao redor de cavidades, Ceballos et al. (2001) realizaram preparos cavitários com alta-rotação, estes foram tratados com ácido fosfórico ou laser de Er:YAG, restaurados com resina composta e submetidos a desafio ácido. A avaliação das lesões formadas, pela MLP, mostrou que o laser promoveu uma significativa maior redução na extensão das lesões, sendo de 56% na porção coronária e 39% na porção radicular.

Realizando análise química da estrutura dental após irradiação com laser de Er,Cr:YSGG, estudo de Yu et al. (2000) mostrou aumento de íons cálcio na superfície do esmalte, com manutenção da proporção de Ca/P antes e após a irradiação, segundo os autores acredita-se que tenha

ocorrido uma reorganização dos cristais de hidroxiapatita após o efeito foto térmico do laser.

Hossain et al. (2000) avaliaram o efeito da irradiação do laser de Er:YAG, na resistência a desmineralização do esmalte após desafio ácido (solução de ácido láctico, pH 4,8; 24 h). A análise do cálcio perdido nas soluções, pela espectrofotometria de emissão atômica (EEA) mostrou que a irradiação com laser de Er:YAG, com ou sem refrigeração, foi efetiva na redução da perda de cálcio, porém a ausência de refrigeração promoveu maior resistência à desmineralização. Na mesma linha de pesquisa e com resultados similares, Hossain et al. (2001b) realizaram a irradiação do esmalte com laser de Er,Cr:YSGG (67,9 J/cm², com ou sem água) e posterior desafio ácido, observando pela EEA que a radiação laser foi efetiva na redução da desmineralização do esmalte, sendo que a irradiação sem *spray* de água promoveu os menores valores de perda de cálcio. A análise em MEV mostrou que no grupo controle houve exposição dos prismas de esmalte devido a desmineralização, enquanto nas amostras irradiadas pelo laser de Er,Cr:YSGG foi observada manutenção das alterações promovidas pelo laser, com áreas de fusão e degeneração térmica.

Avaliando a resistência a desmineralização, Cecchini (2001) realizou a irradiação do esmalte com laser de Er:YAG, com diferentes protocolos (contato e não contato) e radiâncias, e imersão das amostras em gel de tampão acetato (pH 4,5; 8 h). A análise por espectrofotometria atômica das soluções mostrou aumento da resistência a desmineralização. A MEV mostrou que as irradiações promoveram uma superfície de esmalte rugosa,

com ausência de zonas de fusão e ressolidificação, e áreas de desmineralização e exposição dos prismas de esmalte na porção não irradiada (controle).

Apel et al. (2002b), utilizaram dentes bovinos para avaliar o efeito cariostático da irradiação do esmalte com os lasers de Er:YAG e Er:YSGG, com 4 J/cm², 6 J/cm² e 8 J/cm². Algumas amostras foram previamente tratadas com solução de fluoreto de sódio 1%, por 15 min. Após o desafio ácido foi mensurada a perda de cálcio nas soluções pela EEA, sendo observada uma diminuição de 20% na solubilidade do esmalte, após a irradiação com ambos os lasers em comparação ao controle, porém sem diferenças significantes, o tratamento com flúor e posterior irradiação levou a perda de cálcio semelhante ao tratamento somente com flúor. Pode-se concluir que o tratamento com os lasers de Er:YAG e Er:YSGG não tiveram efeito adicional no tratamento com flúor. Os autores afirmaram que os parâmetros de irradiação avaliados não apresentam potencial para o aumento da resistência ácida do esmalte.

Bevilacqua (2002) avaliou *in vitro* a incorporação do íon fluoreto e a resistência ácida do esmalte dental bovino após irradiação com laser de Er:YAG, com diferentes parâmetros e distâncias de irradiação. Foi observado, após o desafio ácido (solução de ácido acético, pH 4,5; 8 h), e análise em espectrofotometria de absorção atômica e espectrometria de raios X, que a irradiação com baixas radiâncias (1,8 e 0,9J/cm²) promoveram maior incorporação de fluoreto, radiâncias abaixo do limiar de ablação não aumentaram a incorporação de fluoreto no esmalte, a utilização de

radiâncias mais elevadas (31,84 J/cm²) associadas ao fluoreto promoveram perda de fosfato similar ao cálcio, e maior redução da perda mineral que o grupo controle (somente fluoreto), outros parâmetros promoveram valores similares com o controle.

Avaliando a formação de lesões de cárie em restaurações, com margens em esmalte e dentina, Domingues (2003) realizou preparos cavitários com ICR ou laser de Er:YAG (400mJ/6Hz ou 400mJ/6Hz + 80mJ/2Hz), restaurações sem condicionamento ácido e aplicação de sistema adesivo, portanto, somente com RC (Z100). Após ciclagem de pH foi realizada avaliação em MLP, sendo observado que não houve diferença estatística na extensão das lesões superficiais em esmalte e dentina, a frequência das lesões de parede no esmalte foi menor nas cavidades preparadas com o laser (400mJ/6Hz) em comparação aos demais grupos, não houve diferença significativa na formação de lesões de parede nas margens em dentina dos diferentes grupos.

No estudo de Apel, Schäfer e Gutknecht (2003) cavidades foram preparadas com lasers de Er:YAG (20Hz, 260mJ) e Er,Cr:YSGG (20Hz, 305mJ) e alta-rotação, as amostras foram submetidas a ciclagem de pH e avaliação das fotomicrografias, em microscopia de luz polarizada, mostraram com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG maior profundidade das lesões (133,9 e 133,8µm respectivamente) em comparação ao grupo controle (77,4 µm), portanto com estes parâmetros não houve efeito de aumento da resistência ácida do esmalte irradiado com os lasers de érbio.

Estudo de Delbem et al. (2003) avaliaram *in vitro*, o efeito do laser de Er:YAG sobre o esmalte quanto sua ação anticariogênica. As amostras foram tratadas com flúor fosfato acidulado (FFA), laser (1 Hz, 60 mJ, 0,95 J/cm²), laser + FFA e controle negativo. Após ciclagem de pH foram realizados os testes de microdureza superficial, microdureza transversal e análise da concentração de fluoreto de cálcio na superfície. Os resultados mostraram que houve uma redução na microdureza superficial em todos os grupos, o controle apresentou uma maior diminuição e o laser + FFA uma menor diminuição, os grupos FFA e laser foram similares. A porcentagem do conteúdo mineral na superfície foi menor nos grupos controle e Er:YAG e maior nos grupos FFA e Er:YAG+FFA, enquanto que nas porções profundas não houve diferenças entre os grupos. A quantidade de CaF₂ depositado antes da ciclagem de pH foi maior no grupo FFA quando comparado aos demais grupos, a quantidade de CaF₂ depositado após a ciclagem de pH não mostrou diferenças entre os grupos. Os autores concluíram que a irradiação do laser influencia na deposição de CaF₂ no esmalte, resultando em ação anti-cariogênica superficial, porém não em profundidade.

Apel et al. (2004) verificaram as alterações químicas ocorridas no esmalte irradiado com os lasers de Er:YAG (8J/cm²) e Er:YSGG (6J/cm²), após uma semana de desafio ácido *in situ*, foi avaliada a microdureza superficial do esmalte, sendo observado que imediatamente após a irradiação do esmalte com parâmetros sub-ablativos (antes do desafio cariogênico), os valores de microdureza do esmalte irradiado foram menores do que os resultados do grupo controle, indicando uma perda mineral durante o

procedimento de irradiação. Após o desafio ácido, as amostras irradiadas apresentaram uma tendência à menor perda mineral em relação às amostras não-irradiadas, porém sem diferença significativa. Com base nos resultados encontrados, os autores consideraram a necessidade de novos estudos para avaliar o efeito do laser de Er,Cr:YSGG no aumento da resistência ácida do esmalte. Na mesma linha de estudo, Apel et al. (2005) realizaram estudo *in situ* avaliando pela microscopia de luz confocal (Confocal Laser Scanning Microscopy) o efeito de parâmetros sub-ablativos com os *lasers* de Er:YAG ($6\text{J}/\text{cm}^2$) e Er:YSGG ($8\text{J}/\text{cm}^2$) na resistência ácida do esmalte. Foi observada a presença de pequenas fendas na superfície do esmalte irradiado, uma maior profundidade de perda mineral nas amostras tratadas com os *lasers* foi atribuída à presença dessas fendas. Desta forma, os autores sugerem que os benefícios da irradiação, com baixas radiâncias dos *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG, para a prevenção de cárie podem não ser obtidos em função de alterações foto térmicas e morfológicas na estrutura do esmalte.

Estudo *in vitro* realizado por Freitas (2005) avaliando os efeitos preventivos, de parâmetros sub-ablativos do laser de Er,Cr:YSGG, na desmineralização do esmalte, amostras foram tratadas com laser com diferentes parâmetros (G1- 0,25W; $2,8\text{J}/\text{cm}^2$; G2- 0,5W; $5,6\text{J}/\text{cm}^2$ e G3- 0,75W, $8,5\text{J}/\text{cm}^2$; com 20HZ, 0% água, 20% ar), com dentifrício fluoretado (G4) ou controle negativo. Após ciclagem de pH, foi realizada a microdureza de secção transversal e observado que não houve diferenças significativas na porcentagem de volume mineral perdido nos grupos lasers G1 e G2, ambos

foram maiores do que o grupo laser G3, nenhum dos grupos laser diferiu estatisticamente do grupo tratado com o dentifrício fluoretado. Os resultados do estudo sugerem que a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG com radiância de $8,52\text{J}/\text{cm}^2$ pode ser uma alternativa efetiva na obtenção do aumento da resistência ácida do esmalte e que menores radiâncias podem apresentar um potencial cariostático, semelhante ao tratamento com dentifrício fluoretado. As análises morfológicas pela microscopia de luz mostraram que quanto maior a radiância utilizada, maiores foram os efeitos fototérmicos, e a partir daí, maiores às alterações observadas na morfologia superficial do esmalte irradiado pelo laser, sendo observadas algumas áreas com ablação, e nestas regiões maior desmineralização e menores valores de dureza, devido à exposição dos prismas de esmalte e maior permeabilidade frente ao meio ácido.

Avaliando os efeitos dos lasers de Er:YAG e CO_2 , estudo de Kwon et al. (2005) mostrou que as amostras de esmalte, após irradiação e desafio ácido, tiveram aumento da sua cristalinidade após irradiação com laser de Er:YAG, com formação de a TCF (alfa tri-cálcio fosfato) e fluorapatita, o tratamento com flúor após o laser de Er:YAG e antes do laser de CO_2 promoveu aumento na resistência ácida do esmalte, com redução na perda de cálcio.

No estudo realizado por Liu, Liu e Stephen (2006), as superfícies de esmalte foram irradiadas com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG, sendo observada pela MLP, uma redução na formação de lesões de cárie de 32,78 e 26,93% com frequência de 10Hz e energias de 200 e 100 mJ

respectivamente, sem refrigeração com água, em comparação as superfícies sem tratamento.

Tashima (2006) avaliou a morfologia e a paralisação da progressão de lesões de cárie artificiais em esmalte, após irradiação da superfície com laser de Er:YAG. Após a criação *in vitro* de lesões de cárie no esmalte decíduo (ciclagem de pH, 7 dias), as amostras foram tratadas com laser Er:YAG focado (LC) (60mJ, 2Hz, 18,67J/cm²); laser desfocado 3mm (L3) (60mJ, 2Hz, 3,23J/cm²); laser desfocado 6mm (L6) (60mJ, 2Hz, 1,04J/cm²); aplicação tópica de flúor (F), LC + F (LCF), L3 + F (L3F), L6 + F (L6F), controle negativo (CN) e positivo (CP). Os grupos foram submetidos a novo desafio cariogênico (exceto grupo CN) e avaliação pela MLP, sendo observado que irradiação com laser associada ao flúor impediu a progressão das lesões de cárie em 18% (LCF, L3F e L6F) ou reduziu o corpo da lesão em 23% (L3F e L6F). As fotomicrografias em MEV mostraram nas amostras irradiadas no modo em contato (LC ou LCF), áreas de ablação da lesão de mancha branca, com um padrão irregular e não homogêneo, sendo inviável a utilização deste parâmetro na prática clínica, devido às alterações destrutivas irreversíveis, um padrão homogêneo com o laser em não contato (L3 e L6), com alterações morfológicas similares ao grupo controle negativo (CN), com exposição dos prismas de esmalte e material interprismático decorrente do desafio ácido inicial; e no grupo controle positivo (CP) foi observada grande irregularidade superficial, porosidades, perda estrutural e início de cavitação. O estudo concluiu que a associação entre o laser de Er:YAG com o íon flúor

promoveu efetiva redução na profundidade ou paralisação das lesões de cárie no esmalte decíduo.

Estudo realizado por Ana (2007) teve avaliou os protocolos de irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG que promovessem efeitos foto térmicos e alterações ultra-estruturais no esmalte, e aumento da sua resistência à desmineralização. Amostras foram irradiadas com laser ($2,8 \text{ J/cm}^2$, $5,6 \text{ J/cm}^2$ e $8,5 \text{ J/cm}^2$, associando ou não com a aplicação prévia do fotoabsorvedor pasta de pó de carvão), associadas ou não à aplicação de FFA. Posteriormente, as amostras tratadas foram submetidas à ciclagem de pH e avaliadas quanto à perda mineral e as quantidades de íon flúor. Foi observado pela MEV que em todos os parâmetros laser houve áreas de ablação, com exposição dos prismas de esmalte, devido às temperaturas na superfície da amostra que foram superiores a 110°C , levando desde efeitos foto térmicos (áreas de fusão e vitrificação) até efeitos foto mecânicos (ablação). A análise da temperatura intrapulpar pela câmara termográfica mostrou que não houve aumento de temperatura acima do limite de segurança para vitalidade pulpar. A pasta de pó de carvão não promoveu alterações significativas na morfologia e temperatura pulpar, entretanto, aumentou as temperaturas superficiais durante as irradiações. Apenas a irradiação laser com $8,5 \text{ J/cm}^2$ diminuiu significativamente a perda mineral quando comparado ao grupo sem tratamento; a análise de fluoreto de cálcio mostrou que o laser promoveu maior formação e retenção após aplicação de FFA, provavelmente devido à ablação do esmalte, enquanto que a análise de flúor total mostrou não haver diferenças na quantidade de

fluorapatita formada após a irradiação laser quando comparado às amostras não-irradiadas. As avaliações das soluções DES e RE mostraram não haver diferenças significativas na perda de cálcio e fósforo entre as amostras irradiadas ou não irradiadas; a irradiação laser proporciona maior retenção de fluoreto de cálcio após aplicação tópica de FFA, entretanto, a associação dos tratamentos não levou a maior redução da desmineralização do esmalte, do que a aplicação tópica de FFA isoladamente.

No estudo realizado por Castellan et al. (2007), superfícies de esmalte foram tratadas com FFA ou lasers de Er:YAG ou Nd:YAG, as análises da microdureza longitudinal e porcentagem de volume mineral, após desafio cariogênico, mostrou que todos os grupos apresentaram menor perda mineral comparado aos grupos não irradiados, não houve diferença significante entre os tratamentos com FFA ou laser de Er:YAG.

2.3- Os Materiais Restauradores na formação de lesões de cárie secundária.

Quanto da realização de procedimentos invasivos e restaurações, o surgimento e evolução dos materiais adesivos contribuíram para a realização de cavidades minimamente invasivas e com maior conservadorismo da estrutura dental remanescente (ELDERTON, 1999; FEATHERSTONE, 2000; PETERS; MCLEAN, 2001).

Os cimentos de ionômero de vidro foram desenvolvidos por Wilson e Kent (1972), a partir dos cimentos de silicato e de policarboxilato, apresentando grandes modificações na sua composição, visando melhorar suas propriedades mecânicas e ampliando suas indicações clínicas (NAVARRO; PASCOTTO, 1998)

A utilização de materiais restauradores com capacidade de liberação ou recarregamento de flúor, como o cimento de ionômero de vidro, convencional, de alta-viscosidade ou resino-modificado, em diferentes composições químicas e aplicações clínicas, tem demonstrado potencial anti-cariogênico, com a redução da perda mineral e na incidência e extensão de lesões de cárie secundária (FEATHERSTONE, 2000; FORSTEN, 1990; FORSTEN, 1991; GAO; SMALES; YIP, 2000; RAGGIO, 2001; RODRIGUES, 2003; RUTAR; MCALLAN; TYAS, 2000; SERRA, 1995).

O íon flúor deve ter presença constante, em baixa concentração e alta frequência, no meio bucal, agindo no mecanismo dinâmico da formação das lesões de cárie, e exercendo sua ação anticariogênica, destacando a importância dos materiais restauradores como reservatórios de flúor, e sua ação em períodos críticos de queda do pH nos pacientes de alto risco e atividade (CARVALHO; CURY, 1999; DELBEM; CURY, 2002; ELLWOOD; FEJERSKOV, 2005; RODRIGUES, 2002; SERRA, 1995).

Kidd (1978) avaliou a desmineralização marginal em restaurações de RC e CIV, após desafio ácido, pela microscopia de luz polarizada, sendo observado desmineralização reduzida nas paredes internas das restaurações de CIV e lesões externas menos severas em comparação à RC.

Em estudo realizado por Serra e Cury (1992) foi avaliada a microdureza do esmalte adjacente a restaurações com diferentes materiais submetidas à ciclagem de pH. Foi observado que as restaurações de CIV (Ceram Fil) apresentaram menor formação e progressão da lesão de cárie que as de RC (Herculite).

No estudo realizado por Benelli et al. (1993) realizadas restaurações com CIV convencional ou resina composta, e após desafio cariogênico realizado *in situ* por voluntários. Foi observada maior concentração do íon flúor e menor perda mineral, pela microdureza, no esmalte adjacente às restaurações de CIV, sendo um material com forte efeito anticariogênico e de grande valor na prevenção de lesões de cárie secundárias.

Serra (1995) avaliou a desmineralização do esmalte adjacente a restaurações com diferentes materiais liberadores de fluoreto (Heliomolar, Tetric, Dyract, Variglass, Vitremer, Photac Fil, Ketac Fil) ou não (Z100), após a ciclagem de pH e teste de microdureza, foi observado que o CIV convencional apresentou maior potencial cariostático, os CIVRM apresentaram eficácia moderada e os compósitos avaliados, mesmo aqueles contendo flúor, não apresentaram efeito anticariogênico.

Estudo *in vitro* de Dionysopoulos et al. (1998) avaliou a capacidade de alguns materiais restauradores de inibirem a formação de cárie, na superfície radicular. As cavidades foram restauradas com cimento de ionômero de vidro (Fuji), cimento de ionômero de vidro reforçado por prata (Ketac-silver), resina composta com flúor (Tetric), resina composta sem flúor (Silux plus), amálgama com flúor (Flúor-Alloy) e amálgama com alto teor de cobre

(Dispersalloy), e imersas em gel ácido por cinco semanas, a avaliação em MLP mostrou que as restaurações de CIV apresentaram alto potencial na redução da formação de lesões de cárie secundária na superfície radicular.

No estudo de Pereira, Inokoshi e Tagami (1998), foram avaliadas a capacidade de liberação de flúor de diferentes materiais restauradores, e a capacidade de inibição na formação de lesões de cárie *in vitro*. As cavidades foram preparadas em raízes de dentes bovinos e restauradas com Fuji II (CIV), Fuji II LC e Vitremer (CIVRM) ou o sistema adesivo que libera flúor Clearfill Liner Bond II com uma resina composta. Após a imersão em solução desmineralizante por três dias, seccionamento das restaurações e avaliação em MLP, foi observada formação de uma zona de inibição adjacente para o CIV e os CIVRM, porém não foram observados ao redor da resina com sistema adesivo. A largura e altura das zonas de inibição foram significativamente maiores para CIV do que para o CIVRM. Os cimentos de ionômero de vidro resino-modificados ofereceram menor proteção contra a formação de lesões de cárie secundárias *in vitro* quando comparados ao cimento de ionômero de vidro convencional. O sistema adesivo que libera fluoreto falhou na formação de uma zona de inibição ao redor das restaurações de RC.

Pereira et al. (1998) avaliando a microdureza Knoop da dentina adjacente a restaurações, após desafio ácido de três dias, em dentes bovinos, observou que os valores de microdureza na zona de inibição de cárie foram superiores com o CIV (Fuji II) em comparação ao CIVRM (Fuji II LC e Vitremer). A espectrofotometria por energia dispersiva de raios X mostrou

que o cálcio e fósforo estavam presentes na zona de inibição e ausentes no corpo da lesão, mostrando que todos os materiais ionoméricos utilizados no estudo foram efetivos, e criaram uma camada ácida resistente que apresenta microdureza e extensão dependente do material.

Kielbassa, Müller e Garcia-Godoy (1999) compararam através de um estudo *in situ*, as perdas minerais adjacentes e a 0,5mm de distância, de dentes restaurados com diferentes materiais com liberação de flúor (Vitremer, Ketac Molar, Dyract, Ariston). A análise pela microradiografia mostrou que o Ariston foi o único material que apresentou redução da perda mineral adjacente à restauração, em comparação com a distância de 0,5 mm, os CIV não mostraram diferença significativa entre as duas regiões, e o Dyract não mostrou qualquer evidência de redução da perda mineral adjacente à restauração.

Avaliando a liberação de flúor de diferentes CIV de alta viscosidade, indicados para o ART, e CIV convencionais, Raggio (2001) observou que o CIV convencional Vidrion apresentou maior liberação de fluoreto, em comparação aos materiais ionoméricos para ART, que apresentam maior resistência mecânica e redução da solubilidade (Fuji IX, Chem Flex e Ketac Molar).

Kotsanos (2001) realizou estudo *in situ* para avaliar a perda mineral no esmalte adjacente às restaurações. A avaliação da microdureza superficial, realizada antes e após o período experimental e pela MLP, mostrou capacidade protetora dos materiais que liberaram flúor, em ordem decrescente (Vitremer>Ketac Molar> F2000> controle de RC), as

fotomicrografias pela luz polarizada mostraram ausência de lesão para o CIVRM, e menos de 5% de poros com o CIV convencional e o compômero, e a RC mostrou lesões visíveis e bem diferenciadas em relação aos outros grupos.

Hara et al. (2002) avaliaram a microdureza na dentina adjacente à restaurações, em raízes de dentes bovinos, submetidas a ciclagem de pH. Foi observado que o CIV (Ketac Fil) promoveu efeito cariostático de até 300µm, o CIVRM (Fuji II LC) de até 150 µm, enquanto o compômero (Dyract) e as RC com flúor (Surefill) e sem flúor (Filtek Z250) não apresentaram efeitos cariostáticos significantes.

Visando avaliar *in vitro* a formação e inibição de lesões de cárie secundarias, Okuda et al. (2003) realizaram restaurações em dentes bovinos com CIV (Fuji II), CIVRM (Fuji II LC), sistema adesivo que libera flúor (Clearfil Liner Bond 2V) com uma resina composta convencional, e uma resina que não libera flúor (Clearfil AP-X- controle negativo). Após o desafio ácido em solução desmineralizadora (ácido acético, pH 4,5, 3 dias) foi realizada a avaliação das lesões formadas, utilizando um microscópio de varredura confocal laser e mapeamento da distribuição do cálcio por um microscópio analítico de raio X. Os resultados mostraram maiores zonas de inibição ao redor do CIV e CIVRM, e ausência de zonas de inibição nas áreas adjacentes das restaurações com RC. Resultados similares foram observados por Dionysopoulos et al. (2003) avaliando a formação de lesões de cárie ao redor de restaurações na superfície radicular, observaram pela MLP, após 5

semanas de imersão em gel ácido, lesões com menor extensão com o CIVRM e compômeros em relação a RC.

Estudo realizado por Rodrigues (2003) avaliou o efeito de diferentes modelos de desafio cariogênico para formação de lesões de cárie adjacentes a restaurações em dentes decíduos, com diferentes materiais. Pode-se observar que no modelo *in vitro* de ciclagem de pH (3h DES e 21h RE, 10 dias) houve maior perda mineral que no modelo *in situ*; no modelo *in vitro*, a análise da microdureza Knoop no esmalte adjacente as restaurações mostrou que os CIV e CIVRM (Fuji IX e Vitremer) foram superiores, seguidos pelo compômero (Dyract) e a RC com liberação de flúor (Tetric Ceram) e pela RC sem liberação de flúor (Filtek Z250), como também observado por Takahashi, Emilson e Birkhed (1993).

No estudo de Gonzalez, Yap e Hsu (2004) foram comparadas a formação de lesões de cárie em restaurações com diferentes materiais que liberam íon flúor. A MLP mostrou lesões com menor profundidade e extensão no esmalte que na dentina, os CIV e CIVRM mostraram maior inibição na formação de lesões que a RC e compômero.

Hara et al. (2005) avaliaram a formação de lesões de cárie secundárias na dentina adjacente à restaurações na superfície radicular submetidas a ciclagem de pH. A microscopia de luz polarizada mostrou reduzidas áreas de desmineralização com o CIV; não houve diferença significativa entre os sistemas adesivos que liberam flúor (Optibond Solo, One-up Bond F, Prime & Bond NT, Tenure Quick) e os que não liberam, mostrando maiores áreas de desmineralização para ambos; foi observada ausência de

lesão de parede e maior porcentagem mineral no CIV e Optibond Solo. Apesar de alguns adesivos liberarem flúor, não foram capazes de inibir lesões de cárie secundárias.

No estudo de Lobo et al. (2005) foi avaliada a formação de lesões de cárie secundárias artificiais, induzidas por ciclagem de pH ou microbiológicos, ao redor de restaurações, sendo observada pela microdureza que os valores de conteúdo mineral, ao redor das restaurações, foram altos para os CIVRM, CIV e controle negativo (sem desmineralização), intermediários para o compômero, amálgama e cimento de óxido de zinco livre de eugenol e baixos para a resina composta. Na avaliação pela MLP foram observadas lesões mais profundas na RC e compômero, mostrando que os materiais ionoméricos demonstraram um efeito cariostático superior quando comparados aos outros materiais restauradores.

No estudo de Rodrigues et al. (2005) foi avaliado *in vitro*, o efeito cariostático de materiais restauradores contendo ou não flúor (Ketac Fill, Fuji II LC, F-2000, Degufil Mineral, Sure Fil and Z-250) associados à aplicação de dentifrícios (fluoretado e não-fluoretado) no esmalte. As restaurações após ciclagem de pH, foram avaliadas quanto a formação de lesão de cárie, por cinco examinadores calibrados, através de inspeção visual por escores (0 a 5). Foi observado que quando associados ao dentifrício fluoretado os materiais não diferiram entre si, quando foi associado com o dentifrício não-fluoretado o CIV apresentou o maior potencial cariostático, seguido pelo CIVRM e os demais materiais. O CIV não diferiu com a aplicação dos dentifrícios, apresentando alto potencial cariostático.

Amaral, Guedes-Pinto e Chevitarese (2005) avaliaram *in situ* a remineralização do esmalte de fóssulas e fissuras, previamente desmineralizados e selados com CIV (Fuji IX) ou selante (Delton). A avaliação da microdureza Knoop, desde a base da fissura até uma abertura de 600µm, após 30 dias do experimento com os voluntários, mostrou que o selamento com o CIV foi capaz de tornar o esmalte de sulcos e fissuras mais resistente à desmineralização, pelo aumento do valor de dureza Knoop, que o selamento com material resinoso.

No estudo de Chan et al (2006) foi observado maior liberação do íon flúor para o CIV convencional e CIVRM, que as resinas compostas sem flúor e experimental com flúor na composição, destacando que a liberação do íon na RC experimental foi alta nas primeiras 24h e depois teve uma queda até o 7º dia, sendo que a liberação do flúor esta dependente do processo de dissolução e difusão iônica com o meio, a incorporação de HEMA aumentou a hidrofília e liberação de flúor, porém este aumento da sorção de água poderá afetar nas propriedades mecânicas e durabilidades dos compósitos.

Avaliando a resistência à microtração e desmineralização na interface dentina/adesivo, antes e após utilização de substância indutora de cárie artificial, estudo de Peris et al. (2007) mostrou não haver diferenças significantes no teste de microtração entre os sistemas adesivos (Single Bond e Clearfil SE Bond, sem flúor e Optibond Solo Plus e Clearfil Protect Bond, com flúor), tanto no grupo controle quanto no grupo tratado, a formação de lesão de cárie reduziu significativamente os valores da resistência de união para todos os adesivos. O Optibond Solo Plus apresentou a menor formação

de lesões de cárie, e a concentração de flúor nas soluções DES-RE foi menor que 0,03 ppm, independente do sistema adesivo testado. Observando que o íon flúor presente nos sistemas adesivos não foi capaz de inibir a formação de lesões de cárie secundárias, nem de manter os valores de resistência adesiva após a desmineralização.

O estudo *in vitro* realizado por de Salar et al. (2007) mostrou, pela avaliação em microscopia de luz polarizada (MLP), a formação de lesões de cárie com menor extensão e frequência (7%) quando se utilizaram selantes de resina que liberam flúor ou ionoméricos, em comparação aos selantes resinosos convencionais que não liberam flúor (12%).

Wieganda, Buchalla e Attina (2007) realizaram revisão de literatura avaliando a capacidade de liberação e recarga de flúor e as propriedades antimicrobianas dos materiais restauradores liberadores de flúor, discutindo o estado atual da prevenção ou inibição da formação ou progressão de lesões de cárie. Os autores mostraram que os materiais restauradores que contém o íon na sua composição apresentam diferenças na sua liberação e recarga, sendo que a liberação do elemento por curto ou longo tempo depende das matrizes, mecanismo de inserção e conteúdo de flúor na composição dos materiais, além das condições ambientais.

Estes materiais devem atuar como um reservatório de flúor, podendo elevar o nível do íon na saliva, placa e estrutura dental, entretanto, estudos clínicos mostraram resultados conflitantes, onde alguns materiais, como CIV convencional ou CIVRM, conseguiram prevenir ou inibir de forma significativa a formação de lesões de cárie secundárias, e afetaram o crescimento

microbiano comparado aos materiais que não liberam flúor, como as resinas compostas.

3 PROPOSIÇÃO

A proposição deste estudo *in vitro* foi:

Avaliar a perda de íons cálcio no esmalte adjacente às cavidades preparadas com ponta diamantada em alta-rotação ou laser de Er,Cr:YSGG, com diferentes parâmetros, e restauradas com diferentes materiais, liberadores ou não de flúor, após desafio ácido em diferentes tempos experimentais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Foram utilizados, no presente trabalho, os seguintes materiais e equipamentos:

A. Equipamentos pertencentes ao Laboratório Especial de *Laser* em Odontologia (LELO) do Departamento de Dentística da FOUSP:

- Equipo Odontológico KaVo: micromotor, contra-ângulo, peça-reta, seringa tríplice e sugador a vácuo.

B. Equipamentos pertencentes ao Laboratório de Biofotônica do Centro de Lasers e Aplicações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CLA-IPEN-CNEN/SP):

- Sistema laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase™ Millennium System, Biolase, USA) (projeto FAPESP/CEPID CEPOF 98/14270-8);
- Gás Nitrogênio comprimido (White Martins);
- Sensor de energia (Power Meter Field Master- Coherent).

C. Equipamentos pertencentes ao Centro de Pesquisas em Biologia Oral do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP:

- Medidor de pH (E520 Metrohm Herisau);
- Agitador magnético (Amicon);
- Balança analítica (Adventure Ohaus).

D. Equipamentos pertencentes ao Laboratório de Petrografia Sedimentar do Instituto de Geologia da USP:

- Lupa estereoscópica (ZEISS 475200/ 9001);
- Microscópio óptico Zeiss acoplado a uma câmera Sony, programa de análise de imagens Leica Qwin (Leica Microsystems).

E. Equipamentos pertencentes ao Laboratório de Cultura de Células do Departamento de Dentística da FOUSP:

- Autoclave Vertical (modelo 415, Fanen);
- Destilador de água (modelo 724, Fanen);
- Deionizador de água (Permutin).

F. Equipamentos pertencentes ao Laboratório do Departamento de Dentística da FOUSP:

- Lupa estereoscópica (ZEISS- Stemi SV11);
- Radiometro (Demetron Kerr).

G. Equipamentos pertencentes ao Laboratório de Pesquisas da Disciplina de Odontopediatria da FOUSP:

- Destilador de água Tipo Pilsen (modelo Q341-12, Quimis);
- Deionizador de água (modelo Q380M22, Quimis);
- Aparelho de fotopolimerização Optilux (Demetron Kerr);
- Pipeta automática Pipetman P5000 (1-5ml, Gilson).

H. Equipamento pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (LEA- IQ):

- Equipamento de Espectrofotometria de Emissão e Absorção Atômica (Spectroflame, Spectro Analytical Instruments, Kleve, Alemanha).

I. Equipamento pertencente Centro de Tecnologia das Radiações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CTR - IPEN-CNEN/SP):

- Equipamento de emissão de radiação gama para esterilização de amostras (Gammacell 220, Atomic Energy of Canadá Ltd.).

J. Materiais utilizados:

- Água destilada e deionizada;
- Cera utilidade e cera pegajosa (Horus Dentsply);
- Detergente à base de lauril-dietil éter sulfato de sódio (Tergentol) (FARMUSP);
- 10 discos diamantados de dupla face (referência 7020) (KG Sorensen);
- 20 pontas diamantadas topo plano com *stop* (referência 2294) (KG Sorensen);
- Espátula nº 1 para inserção de cimento e resina composta (Cyann, Duflex);
- Espátula plástica (GC);
- Bloco de papel para manipulação e cimentos (3M ESPE);
- Papel filtro laboratorial;
- Papel absorvente (Kleenex);

- Lima endodôntica 30 (Maillefer);
- Régua endodôntica (Maillefer);
- Sonda milimetrada periodontal (Duflex);
- Lâmina de Bisturi nº 12 (BD);
- Escova tipo Robson (KG Sorensen);
- Filme laboratorial (Parafilm "M", Sigma);
- Pedra pomes (SSWhite);
- Potes plásticos transparentes com tampa de 15 ml (Frascolex);
- Fio dental sem flúor (Sanifill);
- Pincel descartável (FGM);
- Placas de vidro;
- Régua plástica flexível transparente (Trident);
- Caneta a prova de água cores vermelha, azul, verde (Pilot);
- 3^{os} molares permanentes cedidos pelo Banco de Dentes Humanos - FOUSP;
- Solução desmineralizadora contendo: CaCl_2 (2,2 mM) (Merck); NaH_2PO_4 (2,2 mM) (Merck); ácido acético (0,05 M) (Merck) com pH 4,8 ajustado com solução de KOH 1M (Merck), por litro de solução;
- Solução fisiológica (FARMUSP);
- Verniz ácido resistente (esmalte de unha cor vermelha) (Colorama);

- Vaselina líquida (Dinâmica);
- Vidrarias (Becker, Frascos com tampa, Erlenmayer);
- Almotolia de plástico;
- Ponteiras descartáveis Diamond D5000 para pipeta regulável Pipetman P5000 (modelo F161571, 1-5ml, Gilson);
- Ácido fosfórico Scotchbond 37% (3M ESPE) (lote 5GB validade 11/08);
- Cimento de ionômero de vidro convencional Ketac Molar Easy Mix (3M ESPE) (CIV) (pó cor A3, lote 228268 validade 9/08) (líquido lote 231929 validade 11/08);
- Cimento de ionômero de vidro resino-modificado Vitremer (3M ESPE) (CIVRM) (cor pedo, lote 6EF validade 5/09);
- Sistema adesivo Adper Single Bond 2 (lote 6HL validade 6/09);
- Resina composta Filtek Z-350 (3M ESPE) (RC) (cor B2, lote 7CB validade 12/09)

4.2 Métodos

4.2.1 Aspectos éticos

Esta pesquisa foi desenvolvida após aprovação em 3 de novembro de 2005 do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da

Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEP - FOUSP) - Parecer de aprovação Protocolo 173/05 (Anexo A).

4.2.2 Preparo das amostras

4.2.2.1 seleção e preparo dos dentes permanentes

A amostra consistiu de 40 terceiros molares permanentes provenientes do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP).

A porção coronária e radicular dos dentes obtidos foi limpa com curetas periodontais e profilaxia com escova de Robinson e pasta contendo pedra pomes e detergente à base de lauril-dietil éter sulfato de sódio em baixa rotação, seguido de lavagem abundante com água destilada.

As raízes foram seccionadas com discos diamantados de dupla face (referência 7020) (KG Sorensen) em baixa-rotação, sob refrigeração, e posteriormente as coroas foram seccionadas nos sentidos méso-distal e vestibulo-lingual, obtendo-se três blocos de esmalte por dente (total n= 120 espécimes), com área aproximada de 4X4 mm, utilizando-se de cera

pegajosa e utilidade para fixação das amostras durante a realização dos cortes.

Após a secagem com papel absorvente, os blocos de esmalte foram observados em lupa estereoscópica (2X), sendo excluídos das amostras aqueles dentes que apresentassem trincas, restaurações, fluorose, manchas, hipoplasia ou lesão de cárie nas suas superfícies.

As amostras foram imersas em água destilada e deionizada e esterilizadas com radiação gama, a partir de uma fonte de cobalto-60, com dose de 25 kGy (GERALDO-MARTINS, 2007; KLEIN et al., 2005; RODRIGUES et al., 2004). Os blocos de esmalte foram armazenados em solução fisiológica (trocada semanalmente) e mantidos sob refrigeração, até a realização da fase experimental (figuras 4.1 e 4.2).

4.2.2.2 preparo das amostras para posterior confecção das cavidades

Retângulos de filme laboratorial (Parafilm) de 3X3mm foram recortados e colados recobrindo a superfície dos blocos dentais, estas foram impermeabilizadas com duas camadas de verniz ácido-resistente (esmalte cosmético da cor vermelha) e após sua secagem, os retângulos de Parafilm foram removidos, criando áreas padronizadas de 3X3mm para preparo das cavidades e restaurações (2mm de diâmetro) e área de esmalte exposta para desmineralização (1mm) (figura 4.2).

4.2.3 Confeecção dos preparos cavitários

4.2.3.1 confecção dos preparos cavitários com ponta diamantada em alta rotação

Os preparos cavitários das amostras do grupo 1 (tabela 4.1) foram realizados com ponta diamantada 1057 (referência 2294) (KG Sorensen); trocada a cada 5 preparos (SERRA, 1995, RODRIGUES, 2003), em alta-rotação, refrigerada com ar-água (figuras 4.1 e 4.2).

Foram confeccionadas cavidades cilíndricas, com dimensões aproximadas de 1,5mm de profundidade e 2mm de diâmetro, no terço médio das faces vestibular e lingual dos blocos obtidos a partir de molares permanentes, com todo o término da cavidade em esmalte e a profundidade no limite amelo-dentinário (SERRA, 1995). Visando maior padronização cavitária foi utilizada uma matriz confeccionada com filme radiográfico, para padronizar as dimensões cavitárias externa, e uso de lima e régua endodônticas, sonda periodontal e régua plástica transparente para aferir as dimensões internas e externas da cavidade (HARA et al., 2002; RODRIGUES, 2003) (figura 4.2).

Imediatamente após o término dos preparos cavitários, as amostras foram armazenadas em potes transparentes com tampa, identificados com

caneta a prova de água, e mantidas em ambiente de umidade relativa com penso de algodão embebido em solução salina e refrigerado por 24h até a realização das restaurações (figura 4.2).

4.2.3.2 confecção dos preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG

Os preparos cavitários dos grupos 2, 3 e 4 (tabelas 4.1 e 4.2) foram realizados com o equipamento de laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase™ Millennium System, Biolase Technology, Inc), que opera no regime pulsado, infra-vermelho, com comprimento de onda de 2,78 μ m. A largura de pulso do equipamento varia de 140 a 200 μ s, de acordo com os parâmetros selecionados para a irradiação, sua frequência é fixa em 20Hz, energia por pulso de 0 a 300mJ e potência média de 0 a 6W.

Os preparos cavitários foram realizados com laser Er, Cr: YSGG utilizando *spray* de refrigeração com 65% de ar e 55% de água (GERALDO-MARTINS, 2007; HADLEY et al., 2000; HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002a; KIMURA et al., 2001; MELLO et al., 2006; MOLDES, 2003). Para todos os grupos experimentais a irradiação foi realizada com a taxa de repetição ou frequência fixa do equipamento de 20 Hz, variando-se as potências em: grupo 2: 3W (150mJ de energia e radiância de 53,05J/cm²); grupo 3: 4W (200mJ de energia e radiância de 70,74J/cm²); grupo 4: 5W (250mJ de

energia e radiância de 88,43J/cm²) como observado na tabela 4.2 e figura 4.2.

Foi utilizada a peça-de-mão para preparo cavitário (2415), com a fibra (*tip*) cristal de safira modelo G4 (área focal ou *spot size* de 600µm e comprimento de 4 mm), a irradiação e preparo das cavidades foi realizada com a ponta ativa do laser de maneira perpendicular a 1 mm de distância da superfície dental (modo focado) (figura 4.2). Com a finalidade de manter constante à distância, entre a ponta de safira e a superfície dental, uma lima endodôntica foi fixada à cabeça da peça-de-mão e utilizada durante todo o procedimento de irradiação das amostras (NAVARRO, 2001).

Visando aferir a potência emitida (*out put*) em relação à potência determinada no visor do equipamento laser (*in put*), no início e a cada cinco preparos cavitários foi mensurada a potência no equipamento sensor de energia (*Power Meter*) visando padronizar as radiâncias (densidade de energia ou fluência) utilizada nas amostras experimentais (ANA, 2007; FREITAS, 2005; THEODORO et al., 2003).

Seguindo as normas internacionais de segurança, durante toda a irradiação com laser foram utilizados óculos de proteção, com densidade óptica apropriada para o comprimento de onda laser, além do uso de sugador de alta potência, para remoção da pluma de ablação formada e do excesso de água da refrigeração, controle da movimentação de pessoas e acesso à sala do equipamento durante sua utilização, sinal de advertência e sistema de *interlocking* na porta da sala, que se abre durante o uso do equipamento laser haverá interrupção do seu funcionamento, minimizar as

superfícies refletivas e não manter material inflamável próximo ao local de trabalho com laser.

Foram confeccionadas cavidades cilíndricas, com dimensões aproximadas de 1,5mm de profundidade e 2mm de diâmetro, no terço médio das faces vestibular e lingual dos blocos de esmalte, com todo o término da cavidade em esmalte e a profundidade no limite amelo-dentinário (SERRA, 1995). Uma matriz confeccionada com filme radiográfico foi utilizada para padronizar as dimensões cavitárias externas, e uso de lima e régua endodônticas, sonda periodontal e paquímetro digital para aferir as dimensões internas e externas da cavidade e buscar uma padronização das cavidades (MOLDES, 2003; RODRIGUES, 2003).

Imediatamente após o término dos preparos cavitários, as amostras foram armazenadas em potes transparentes com tampa, identificados com caneta à prova de água, e mantidas em ambiente de umidade relativa com penso de algodão embebido em solução fisiológica e refrigeração por 24h até a realização das restaurações (figura 4.2).

Tabela 4.1- Diferentes grupos experimentais de preparos cavitários

Preparos cavitários	Grupos		Sub-Grupos		n amostras
		Parâmetros	Materiais Restauradores		
Alta-rotação	1		1.1	CIV	10
			1.2	CIVRM	10
			1.3	RC	10
Laser Er,Cr:YSGG	2	3,0W	2.1	CIV	10
			2.2	CIVRM	10
			2.3	RC	10
	3	4,0W	3.1	CIV	10
			3.2	CIVRM	10
			3.3	RC	10
	4	5,0W	4.1	CIV	10
			4.2	CIVRM	10
			4.3	RC	10

CIV- cimento de ionômero de vidro convencional Ketac Molar Easy Mix (3M ESPE)

CIVRM- cimento de ionômero de vidro resino-modificado Vitremer (3M ESPE)

RC- Resina composta Filtek Z-350 (3M ESPE)

Tabela 4.2 – Parâmetros utilizados com laser de Er,Cr:YSGG para realização dos preparos cavitários

Grupos	Energia (mJ)	Diâmetro (mm)	Frequência (Hz)	Radiância (J/cm ²)
2	150	0,60	20	53,05
3	200	0,60	20	70,74
4	260	0,60	20	88,43

4.2.4 Restauração das cavidades

Os preparos cavitários, de cada grupo experimental, foram aleatoriamente divididos nos três sub-grupos, em número de dez para cada

um (n=10) e restaurados com diferentes materiais originando um total de 12 sub-grupos (tabela 4.1) (figura 4.1).

Nos grupos 1.1, 2.1, 3.1 e 4.1 as cavidades foram restauradas com o cimento de ionômero de vidro Ketac Molar Easy Mix (3M ESPE) (CIV), seguindo as orientações do fabricante, os preparos cavitários receberam tratamento prévio com pincel descartável umedecido em água destilada e uma gota do líquido do material (ácido poliacrílico), esfregando a superfície durante 10s, e após foi realizada a lavagem da cavidade com água destilada (RAGGIO, 2004) (tabela 4.1) (figuras 4.1 e 4.2).

A secagem da cavidade foi realizada com pedaços de papel filtro absorvente na dentina, mantendo sua umidade e brilho, e breve jato de ar no esmalte (10s) à distância de 10mm da cavidade (CARVALHO et al., 2004a; CARVALHO et al., 2004b; RAGGIO, 2001, 2004; REIS et al., 2003; RODRIGUES, 2003; VAN MEERBEECK et al., 2003).

O tratamento da cavidade foi realizado com o ácido poliacrílico, visando promover uma limpeza nas superfícies do esmalte e dentina, com remoção parcial da *smear layer*, aumento da energia de superfície, maior molhabilidade e penetração do cimento de ionômero de vidro no substrato preparado, propiciando um embricamento micro-mecânico na estrutura dental (BUSSADORI, IMPARATO, GUEDES-PINTO, 2000; IMPARATO, 2005; NASSIF, 2003; NAVARRO; PASCOTTO, 1998; MELLO, 2004; VAN MEERBEECK et al., 2003).

Previamente, os frascos do pó e do líquido foram vigorosamente agitados. Sobre um bloco de papel dispensou-se uma porção do pó, usando a colher medida apropriada, e duas gotas do líquido, de forma

perpendicular à superfície sem desvirar o frasco, sendo que a primeira gota (que pode apresentar bolhas de ar e alteração da proporção) foi usada no tratamento das paredes da cavidade e a segunda gota (sem bolhas e alteração da proporção) foi usada na manipulação do material (BUSSADORI, IMPARATO, GUEDES-PINTO, 2000; RAGGIO, 2001). O material foi aglutinado com espátula plástica e inserido na cavidade com espátula de inserção nº 1, até a perda total do brilho do material. A restauração foi realizada evitando-se deixar excessos, e caso houvesse, estes foram removidos com bisturi nº 12, após o final da presa inicial (10min).

Um fio dental sem flúor foi amarrado nas amostras, e estas imediatamente imersas em 10ml de vaselina líquida por 10min. Decorrido o tempo, os excessos de vaselina foram removidos das amostras e do fio dental com papel absorvente (BRITTO, 2006; BOMBONATTI, 2004).

Nos grupos 1.2, 2.2, 3.2 e 4.2 as cavidades foram restauradas com o cimento de ionômero de vidro resino-modificado Vitremer (3M ESPE) (CIVRM), seguindo as orientações do fabricante (tabela 4.1) (figuras 4.1 e 4.3).

Previamente foi realizado a secagem das cavidades, com pedaços de papel filtro absorventes na dentina, mantendo sua umidade e brilho, e breve jato de ar no esmalte (10s) à distância de 10mm da cavidade (BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; CARVALHO et al., 2004a; CARVALHO et al., 2004b; RAGGIO, 2001; REIS et al., 2003; VAN MEERBEECK et al., 2003).

As cavidades foram tratadas com *primer*, utilizando-se o pincel descartável, por 30s, seguido de volatilização do *primer* com leve jato de ar a distância de 10mm, e fotopolimerização com aparelho Optilux (Demetron

Kerr), com potência aproximada de 500mW/cm², por 20s, utilizando o equipamento radiômetro (Demetron Kerr) para mensuração da intensidade emitida pelo fotopolimerizador.

Os frascos do pó e do líquido foram vigorosamente agitados, uma porção do pó, usando a colher medida apropriada, foi incorporada em uma gota do líquido em bloco de papel. O material foi aglutinado com espátula plástica e inserido na cavidade com espátula de inserção nº 1 e fotopolimerização por 40s. A restauração foi realizada evitando-se deixar excessos, e caso houvesse, estes foram removidos com bisturi nº 12.

Um fio dental sem flúor foi amarrado nas amostras, e estas imediatamente imersas em 10ml de vaselina líquida por 10 min Decorrido o tempo, os excessos de vaselina foram removidos das amostras e do fio dental com papel absorvente (BRITTO, 2006; BOMBONATTI, 2004).

Nos grupos 1.3, 2.3, 3.3 e 4.3 as cavidades foram restauradas com resina composta Z- 350 (3M ESPE) (RC) (tabela 4.1) (figuras 4.1 e 4.3).

As cavidades receberam condicionamento prévio com ácido fosfórico 35% por 15s, no esmalte e dentina, lavagem com água destilada por 20 s, seguida de secagem com pedaços de papéis filtro absorventes na dentina, mantendo sua umidade e brilho, e breve jato de ar no esmalte (10s) à distância de 10mm da cavidade (BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; CARVALHO et al., 2004a; CARVALHO et al., 2004b; RAGGIO, 2001; REIS et al., 2003; VAN MEERBEECK et al., 2003).

Posteriormente, foi realizada a aplicação com pincel descartável de duas camadas consecutivas do sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M

ESPE), como orientações do fabricante, seguido de volatilização dos monômeros e solvente com leve jato de ar à distância de 10mm, e fotopolimerização com aparelho Optilux por 10s. A resina composta foi inserida na cavidade com espátula nº 1, com dois incrementos de 1 mm, fotopolimerizando cada por 20 s. A restauração foi realizada evitando-se deixar excessos, e caso houvesse estes foram removidos com bisturi nº 12.

Um fio dental sem flúor foi amarrado nas amostras, e estas imediatamente imersas em 10 ml de vaselina líquida por 10 minutos. Decorrido o tempo, os excessos de vaselina foram removidos das amostras e do fio dental com papel absorvente (BRITTO, 2006; BOMBONATTI, 2004).

4.2.5 Imersão das amostras na solução desmineralizadora

A solução desmineralizadora escolhida e o modelo de desafio ácido foram determinados, a partir de modelos de ciclagem de pH propostos por Ten Cate e Duijsters (1982) e Itthagarun e Yei (2000) modificados por Mendes (2002) e Mendes (2005).

Para formação das lesões de cárie artificial, as amostras foram imersas em uma solução subsaturada com relação à hidroxiapatita, composta por 2,2 mM de cloreto de cálcio (CaCl_2), 2,2 mM de fosfato monobásico de sódio (NaH_2PO_4) e 0,05 M de ácido acético e o pH ajustado para 4,8 por meio de solução de KOH 1M, preparadas com água destilada e deionizada.

As soluções foram auto-clavadas, armazenadas em frascos de vidro com tampas, previamente esterilizados, e mantidas sob refrigeração, sendo retirada do refrigerador, previamente a troca das soluções, a quantidade necessária para aquele dia, para que atingisse a temperatura ambiente em que estão as amostras (MENDES, 2005).

As soluções foram preparadas em quantidade suficiente para todo o experimento, visando padronizar as soluções utilizadas em todas as amostras, e foi verificado o pH nos diferentes dias do experimento.

As amostras de todos os grupos experimentais foram imersas em 10 ml de solução desmineralizadora, em frascos plásticos individuais identificados, e mantidas em temperatura ambiente durante todo o experimento.

Cada um dos 12 sub-grupos experimentais contém um frasco com a solução desmineralizadora padrão ouro (inicial ou controle- não foram imersas nenhuma amostra no interior) e dez frascos com a solução desmineralizadora teste (foram imersas as amostras de fragmento dental e restauração) (figura 4.4).

Um fio dental sem flúor foi amarrado nas amostras de blocos de esmalte com restauração, suas extremidades livres passaram por orifício criado no centro da tampa plástica dos frascos, este fio foi puxado de forma que as amostras ficassem no centro da solução e sem encostar-se nas paredes do frasco, evitando o atrito, solubilização e desgaste do material restaurador (BRITTO, 2006; BOMBONATTI, 2004).

4.2.6 Troca das soluções desmineralizadoras

Os modelos de desafio cariogênico *in vitro*, através da realização de ciclagens de pH tornam-se úteis e viáveis, testando a eficácia de materiais restauradores, produtos fluoretados ou mesmo diferentes tratamentos no esmalte dental, como laser em alta intensidade, servindo para avaliar a concentração de mineral perdido nas soluções, a progressão e a reversão das lesões incipientes no esmalte, ou concentração mineral no esmalte através de microdureza ou luz polarizada, variando de acordo com o fluxo de minerais do dente.

A realização de desafio ácido, somente com solução desmineralizadora visa promover um desafio mais intenso e agressivo que normalmente ocorre no meio bucal.

As soluções foram renovadas evitando acúmulo dos componentes liberados, em especial o íon flúor (FEATHERSTONE, 1996; MENDES, 2005; SERRA, 1995; SERRA; CURY, 1992; RODRIGUES, 2003; TAKEUTI, 2002).

No presente estudo, as soluções em todos os grupos experimentais foram trocadas nos seguintes tempos: 1º dia, 3º dia e 7º dia após imersão das amostras. Tais tempos foram determinados em relação ao material cimento de ionômero de vidro convencional (CIV) que apresenta a presa final e liberação máxima de flúor em 24h, redução e posterior estabilização das concentrações de fluoreto de 3 a 5 dias e estabilização final em 7 dias

(SERRA, 1995; SERRA; CURY, 1992; RODRIGUES, 2003; TAKEUTI, 2002) (figuras 4.1 e 4.4).

As amostras foram imersas em frascos individuais identificados contendo 10ml da solução desmineralizadora (DES), após 24h as amostras foram removidas e imersas em frascos identificados contendo nova solução DES, permanecendo até o 3º dia após o início do experimento.

Após este período, as amostras foram novamente removidas e imersas em frascos identificados com novas soluções DES e permaneceram até o 7º dia após o início do experimento. Durante a troca das soluções, as amostras foram removidas das soluções com auxílio de pinça plástica e luvas de borracha, não podendo ser utilizada a pinça metálica, pois o metal pode interferir nas análises posteriores (CECCHINI, 2001).

Finalmente, as amostras foram removidas e lavadas com água destilada e deionizada, secadas com papel absorvente e armazenadas em frascos plásticos identificados. As amostras de dente com restauração foram mantidas em ambiente de umidade relativa com penso de algodão embebido em solução fisiológica sob refrigeração para serem utilizadas em outras análises em estudos futuros (FREITAS, 2005; RODRIGUES, 2003; TASHIMA, 2006).

Os frascos plásticos contendo a solução desmineralizadora padrão ouro (inicial ou controle: na qual não foi imersa nenhuma amostra em seu interior) e a solução desmineralizadora teste (nesta foi imersa amostra de dente com restauração em seu interior) foram mantidos sob refrigeração, por até uma semana.

Uma alíquota de 5ml que foi retirada de cada pote de solução (inicial e teste) e misturada com 5ml de ácido nítrico a 10% e inseridas em novos potes identificados, estes foram armazenados sob refrigeração, por até uma semana, e realizada a análise quantitativa pela espectrofotometria de emissão atômica do conteúdo de cálcio perdido do esmalte adjacente às restaurações (MENDES, 2005). A retirada das alíquotas foi realizada com uma ponteira descartável para cada amostra, para que não ocorresse contaminação entre as amostras a serem avaliadas (MENDES, 2005).

Os frascos contendo a solução inicial e testes remanescentes foram mantidos sob refrigeração para realização futura de outras análises quantitativas.

4.2.7 Análise em lupa estereoscópica

As amostras dos blocos de esmalte com restauração foram avaliadas em lupa estereoscópica (aumento de 10 X), com auxílio de um analisador de imagens (Leica Qwin). Foram medidas às áreas das janelas e das restaurações em mm² de cada amostra individualmente, para posterior cálculo da área de esmalte exposto ao redor das restaurações e da quantidade de cálcio perdida por área de esmalte de cada amostra (figuras 4.4, 5.3 e 5.4) (FREITAS, 2005; MENDES, 2005, RODRIGUES et al., 2005; TASHIMA, 2006)

4.2.8 Espectrofotometria de Emissão Atômica

4.2.8.1 princípios da Espectrofotometria de Emissão Atômica

O espectrofotometro de emissão atômica é um equipamento utilizado para avaliação qualitativa e quantitativa de elementos químicos. Radiação eletromagnética (luz) é absorvida e/ou emitida por átomos da amostra experimental. Na maioria dos casos há emissão e absorção de radiação eletromagnética por átomos ou íons.

É um método utilizado para leituras de elementos contaminantes na urina como cromo, níquel e cobre; alumínio no sangue e fósforo nos ossos. O uso de instrumentais cirúrgicos metálicos (pinças, tesoura, agulha, espátulas) contamina as amostras.

No mecanismo de funcionamento do equipamento, a amostra é decomposta através de intenso calor (7000°C) em uma nuvem de gases quentes contendo átomos livres e íons do elemento a ser analisado, ocorrendo grande excitação por colisão dos átomos da amostra.

A energia absorvida pelos átomos da amostra é muito alta, suficiente para que o elétron se separe do átomo, deixando um íon com carga positiva no processo chamado de ionização. A energia necessária para que

ocorra este processo é o potencial de ionização, sendo variável para cada elemento químico (CECCHINI, 2001; MENDES, 2005).

Cada elemento tem seu nível de energia característico e seu próprio comprimento de onda de absorção e de emissão. Esta propriedade é que torna útil a espectrofotometria atômica na técnica de análise de determinação de elementos químicos.

O mecanismo de excitação térmica é realizado através de um plasma do gás argônio, que pode determinar diferentes elementos ao mesmo tempo, sendo um plasma elétrico altamente ionizado e energético.

As amostras de solução desmineralizadora são colocadas em um nebulizador que as transformam em aerosol para ser introduzida no equipamento junto com o plasma de argônio. Este irá remover os solventes do aerosol, vaporizar, decompor as partículas do sal em gás de moléculas individuais e atomizar (dissociar em átomo), levando à excitação e ionização dos átomos.

A luz emitida, pelos átomos excitados e íons no plasma, é medida para se obter as informações da amostra analisada. Como os espécimes excitados no plasma emitem luz em diferentes comprimentos de onda, há uma emissão policromática. Esta emissão será separada em diferentes comprimentos de onda individuais, de modo que cada elemento químico excitado pode ser identificado, sem interferência da emissão dos outros comprimentos de onda. A separação da luz de acordo com o comprimento de onda é realizada utilizando um monocromador ou policromador. A informação qualitativa é realizada pela identificação do comprimento de

onda característico dos diferentes elementos química presentes na amostra. A informação quantitativa é dada pela curva de calibração, que é a razão da medida da intensidade da radiação pela concentração, sendo esta realizada em duas leituras como margem de segurança (CECCHINI, 2001; MENDES, 2005).

4.2.8.2 análise da quantidade de cálcio perdido por amostra

Alíquotas de 5 ml das soluções desmineralizadoras, dos diferentes grupos e tempos experimentais, das amostras da solução original e teste, foram misturadas a alíquotas de 5ml do ácido nítrico 10% e analisadas através da espectrofotometria de emissão atômica com fonte de excitação de argônio induzido, usando um equipamento espectrofotômetro seqüencial.

No equipamento realizou-se primeiramente a leitura de uma solução padrão de cálcio com concentração pré-determinada, os valores foram armazenados no programa para obtenção de uma curva de calibração. Em cada amostra foram realizadas duas leituras pelo equipamento, e a partir de uma curva de calibração, foi obtida a concentração do elemento químico analisado (em ppm).

Para análise das concentrações de cálcio perdido de cada amostra, a concentração obtida da *solução teste* (em que foi imersa a amostra de

dente-restauração) foi *subtraída* da concentração de cálcio da *solução original* (controle), para cada grupo e tempo experimental (figura 4.4).

A partir daí, os valores obtidos das amostras de dente com restauração foram *divididos* pela área de esmalte adjacente às restaurações exposto a desmineralização em cada janela (em mm²). Obtendo-se dessa forma os valores de cálcio perdido de cada amostra em ppm/mm². Os valores obtidos nos diferentes tempos (1º, 3º dia e 7º dia após imersão das amostras) foram somados obtendo-se assim a quantidade perdida de *cálcio total* de cada amostra.

$$\text{solução teste} - \text{solução original} = \frac{\text{concentração Ca (ppm)}}{\text{área de esmalte exposto à desmineralização (mm}^2\text{)}} = \text{concentração Ca perdido (ppm/mm}^2\text{)}$$

4.2.9 Análise estatística

Os valores das concentrações de cálcio perdido de cada amostra (ppm/mm²) foram submetidos a uma análise descritiva e inferencial através de uma Análise de Variância com Medidas Repetidas (ANOVA com Medidas Repetidas), além das comparações múltiplas pelo método LSD, quando necessário (NETER et al., 1996). As análises estatísticas foram realizadas com o

software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versão 11.0 para Windows e o *STATISTICA versão 5.0*.

As comparações múltiplas foram realizadas visando determinar a *variável resposta* concentração de cálcio perdido no esmalte adjacente às restaurações das diferentes amostras. Os fatores de variação foram as diferentes técnicas de preparo cavitário (alta-rotação e laser de Er,Cr:YSGG), os diferentes materiais restauradores (CIV, CIVRM, RC), em diferentes tempos de avaliação (1º, 3º e 7º dia) e a concentração total (soma de todos os tempos).

Figura 4.1 – Esquema ilustrativo do delineamento experimental

Figura 4.2 – Seleção, preparo das amostras e realização das cavidades com alta-rotação e laser de Er,Cr:YSGG

Figura 4.3 – Procedimento restaurador

Figura 4.4 –Desafio ácido, análise das soluções no espectrofotômetro e das amostras na lupa estereoscópica

5 RESULTADOS

5.1-Análise Descritiva das concentrações de cálcio perdido nas soluções desmineralizadoras pela espectrofotometria

A análise das medidas da Perda de cálcio foi inicialmente feita de forma descritiva, utilizando o cálculo de algumas medidas-resumo, como a média, mediana, desvio-padrão, entre outras, e confeccionados gráficos de linhas e do tipo boxplot (BUSSAB; MORETTIN, 2006).

A análise inferencial empregada, com o intuito de confirmar ou refutar evidências encontradas na análise descritiva, foi a Análise de Variância com Medidas Repetidas (ANOVA com Medidas Repetidas), além das comparações múltiplas pelo método LSD, quando necessário (NETER et al., 1996).

Em todas as conclusões das análises inferenciais foi utilizado o nível de significância $\alpha=5\%$. Os dados foram digitados em planilhas do *Excel 2000 for Windows* para o adequado armazenamento das informações. As análises estatísticas foram realizadas com o *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS)* versão 11.0 *for Windows* e o *STATISTICA* versão 5.0.

As Tabelas 5.1 a 5.4 trazem algumas medidas-resumo da Perda de cálcio, considerando as Técnicas e os Materiais nos Tempos avaliados.

Tabela 5.1- Medidas-resumo da Perda de cálcio na Técnica alta-rotação, segundo Material e Tempo

Técnica	Material	Medidas-resumo	TEMPOS			
			1º dia	3º dia	7º dia	total
alta-rotação	11-CIV	N	10	10	10	10
		Média	2,1513	6,3877	2,3534	10,8924
		Mediana	1,8615	7,2849	2,3667	10,5442
		Mínimo	-6,4253	-0,4261	-9,1788	-1,6905
		Máximo	12,8989	10,5925	7,3122	30,8037
		Desvio-padrão	4,8155	3,3545	4,5047	8,7321
	12- CIVRM	N	10	10	10	10
		Média	-6,9606	3,4249	9,9649	6,4292
		Mediana	-5,9120	4,1114	9,8690	7,4574
		Mínimo	-2,6675	-4,2172	-1,8422	-4,4892
		Máximo	0,6231	8,2283	22,6911	26,0092
		Desvio-padrão	4,2207	3,8145	8,2304	10,1349
	13- RC	N	10	10	10	10
		Média	1,4690	3,8217	15,8513	21,1421
		Mediana	1,1201	3,3192	10,7959	14,9760
		Mínimo	-3,9190	0,2912	3,2308	3,2496
		Máximo	6,3390	8,3209	53,5454	62,3844
		Desvio-padrão	3,0285	2,9770	15,5037	19,0300
	Total	N	30	30	30	30
		Média	-1,1134	4,5448	9,3899	12,8212
		Mediana	0,5260	4,9192	5,6112	8,7899
		Mínimo	-2,6675	-4,2172	-9,1788	-4,4892
		Máximo	12,8989	10,5925	53,5454	62,3844
		Desvio-padrão	5,7738	3,5415	11,5542	14,3936

Tabela 5.2- Medidas-resumo da Perda de cálcio na Técnica Laser com 3W, segundo Material e Tempo

Técnica	Material	Medidas-resumo	TEMPOS			
			1° dia	3° dia	7° dia	total
laser com 3W	21- CIV	N	10	10	10	10
		Média	1,3167	1,7213	-0,9616	2,0765
		Mediana	1,5054	1,1947	-2,0947	1,4891
		Mínimo	-2,9896	-2,1049	-6,2853	-7,3718
		Máximo	6,1043	8,4450	5,8226	16,4347
		Desvio-padrão	2,5324	3,2405	4,1196	8,3842
	22- CIVRM	N	10	10	10	10
		Média	0,7913	0,4599	1,3928	2,6439
		Mediana	1,1557	0,3768	1,2760	3,7474
		Mínimo	-7,2248	-2,0281	-2,8299	-11,090
		Máximo	4,4182	3,9349	7,2313	15,5844
		Desvio-padrão	3,3455	1,9094	3,2287	6,7401
	23- RC	N	10	10	10	10
		Média	4,0352	4,6434	4,7989	13,4776
		Mediana	4,2478	4,3762	4,8546	10,4386
		Mínimo	-1,0532	2,1123	-0,6419	5,4850
		Máximo	8,1149	9,3629	12,3204	26,4382
		Desvio-padrão	2,9202	2,0705	3,6551	6,6071
	Total	N	30	30	30	30
		Média	2,0477	2,2749	1,7434	6,0660
		Mediana	2,2067	1,9819	2,5836	4,9263
		Mínimo	-7,2248	-2,1049	-6,2853	-11,090
		Máximo	8,1149	9,3629	12,3204	26,4382
		Desvio-padrão	3,1939	2,9828	4,2934	8,8278

Tabela 5.3- Medidas-resumo da Perda de cálcio na Técnica Laser com 4W, segundo Material e Tempo

Técnica	Material	Medidas-resumo	TEMPOS			
			1º dia	3º dia	7º dia	total
laser com 4W	31-CIV	N	10	10	10	10
		Média	2,4995	8,9389	-0,2597	11,1787
		Mediana	3,3806	9,8118	0,0106	12,6092
		Mínimo	-2,5862	2,5344	-5,3094	-0,1444
		Máximo	5,7531	13,3817	2,4871	18,2767
		Desvio-padrão	2,9343	3,1561	2,4484	6,6020
	32-CIVRM	N	10	10	10	10
		Média	2,8823	3,7105	4,9535	11,5463
		Mediana	2,7927	4,7137	3,8014	10,2965
		Mínimo	-1,8072	-0,6404	0,4662	-0,6973
		Máximo	9,4399	9,7969	14,3232	26,2546
		Desvio-padrão	3,1759	3,7322	4,4505	8,5276
	33-RC	N	10	10	10	10
		Média	6,2864	6,8209	4,5719	7,8487
		Mediana	6,5397	6,2584	3,7237	7,7723
		Mínimo	2,1684	0,9844	-1,2364	0,9854
		Máximo	9,5519	12,7687	11,0084	15,5214
		Desvio-padrão	2,3473	3,8270	4,3122	4,9845
	Total	N	30	30	30	30
		Média	3,8894	6,4901	3,0886	10,1912
		Mediana	4,1240	6,5435	2,3576	9,6105
		Mínimo	-2,5862	-0,6404	-5,3094	-0,6973
		Máximo	9,5519	13,3817	14,3232	26,2546
		Desvio-padrão	3,2418	4,0901	4,4274	6,8313

Tabela 5.4- Medidas-resumo da Perda de cálcio na Técnica laser com 5W, segundo Material e Tempo

Técnica	Material	Medidas-resumo	1° dia	3° dia	7° dia	total
laser com 5W	41-CIV	N	10	10	10	10
		Média	6,9440	7,1343	3,6695	17,7478
		Mediana	6,6635	7,0238	2,9636	16,6298
		Mínimo	2,5384	1,2775	-0,1719	8,8122
		Máximo	16,6582	11,4691	7,4218	33,5694
		Desvio-padrão	4,1970	3,2003	2,6116	7,6302
	42-CIVRM	N	10	10	10	10
		Média	1,6770	4,9655	3,3803	10,0227
		Mediana	0,0811	5,4520	2,6014	10,1442
		Mínimo	-2,3346	0,2347	0,6880	2,3552
		Máximo	6,7046	8,7388	8,4304	20,6280
		Desvio-padrão	3,3026	2,7514	2,8357	6,4574
	43-RC	N	10	10	10	10
		Média	5,6544	5,5557	4,2180	15,4281
		Mediana	4,2550	5,6714	4,8655	12,8391
		Mínimo	0,1028	3,7338	-3,8367	6,9401
		Máximo	12,8226	8,4328	9,9647	28,5139
		Desvio-padrão	3,8089	1,5610	3,8279	7,3451
	Total	N	30	30	30	30
		Média	4,7584	5,8852	3,7559	14,3996
		Mediana	4,2550	6,2027	3,2826	13,2125
		Mínimo	-2,3346	0,2347	-3,8367	2,3552
		Máximo	16,6582	11,4691	9,9647	33,5694
		Desvio-padrão	4,3072	2,6742	3,0470	7,6543

5.2 Análise Inferencial das concentrações de cálcio perdido nas soluções desmineralizadoras nos diferentes grupos experimentais

5.2.1 Análise Inferencial entre Técnica e Material nos diferentes Tempos experimentais

Os resultados inferenciais revelaram a existência do efeito de interação entre o Tempo, Técnica e Material ($p < 0,0001$), isto é há diferenças estatisticamente significantes entre estas variáveis. Desta forma, as comparações entre Técnica e Material foram feitas considerando cada um dos três Tempos.

Esta análise inferencial mostrou o perfil isolado de cada grupo, em cada tempo experimental, trazendo embasamento para a realização da análise inferencial entre os tempos para cada grupo experimental, e entre os grupos no Tempo Total, que foi a principal análise do estudo.

5.2.2 Análise Inferencial da comparação entre os diferentes Tempos para cada grupo experimental

O comportamento dos Grupos também foi avaliado ao longo dos três tempos, com o intuito de investigar, para uma mesma Técnica e Material, possíveis alterações no Tempo, como pode ser observado no gráfico da figura 5.1 e no Apêndice A que trazem o resumo dessas comparações.

Figura 5.1- Distribuição das perdas médias de cálcio, segundo Técnica e Material, ao longo dos Tempos considerados

Como pode ser observado no gráfico da figura 5.1 e na tabela do Apêndice A, analisando os diferentes grupos experimentais (técnica e material) no decorrer do tempo (1, 3 e 7 dias) pode-se observar:

O grupo de preparos cavitários realizados com alta-rotação e restaurados com CIV (11) apresentou significante menor média da perda de cálcio no 1º dia em relação ao 3º dia, portanto menor desmineralização do esmalte, não foi observada diferença significativa entre o 1º e 7º dias, e o 3º dia apresentou maior valor médio de cálcio que o 7º dia. Terminando após os sete dias com valores similares ao primeiro dia.

O grupo de preparos cavitários com alta-rotação e CIVRM (12) apresentou menor média da perda de cálcio no 1º dia em relação ao 3º e 7º dias, como também entre o 3º e 7º dias, começando com um ganho

médio de cálcio (valor negativo), depois com o passar do tempo, e dos desafios ácidos (3 e 7 dias), apresentou uma perda de cálcio, como mostram a figura 5.1 e a tabela do Apêndice A.

O grupo de preparos cavitários com alta-rotação e restaurados com RC (13) apresentou valor médio da perda de cálcio igual entre o 1º e 3º dias, sendo que no 1º e 3º dias foram observados menores valores médios da perda de cálcio em comparação ao 7º dia, mostrando uma maior perda mineral no final do período experimental, sendo o grupo com maior perda no 7º dia (15,85 ppm/mm²).

O grupos de preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG com 3W e restaurados com CIV, CIVRM e RC (grupos 21, 22 e 23 respectivamente) apresentaram valores médios da perda de cálcio similares no decorrer do tempo, não havendo diferenças entre 1º e 3º dias, 3º e 7º dias e 1º e 7º dias. Pode ser observado um comportamento homogêneo, sem grandes disparidades, em relação à perda mineral no decorrer do tempo do estudo em cada grupo experimental, como se observa no gráfico da figura 5.1. Os grupos em que foi utilizado o laser de Er,Cr:YSGG com potência de 3W apresentou os menores valores médios da perda de cálcio no decorrer do tempo.

O grupos de preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG com 4W e restaurado com CIV (grupo 31) apresentou menor valor médio da perda de cálcio no 1º dia em comparação ao 3º dia, não foi observada diferenças entre o 1º e 7º dias, e o 3º dia apresentou maior valor que o 7º dia. Tal

comportamento mostra um aumento da desmineralização no decorrer do tempo e uma queda no final do experimento.

Os grupos com cavidades preparadas com laser com 4W e restauradas com CIVRM e RC (grupos 32 e 33 respectivamente) não apresentaram diferenças nos valores médios da perda de cálcio no decorrer do tempo do estudo, apresentando valores intermediários de perda mineral.

O grupo 41 (preparo cavitário com laser com 5W e CIV) não apresentou diferenças entre o 1º e 3º dias e entre o 1º e 7º dias, porém o 3º dia apresentou maior média em comparação com o 7º dia. Este grupo mostrou um perfil de ascendência da perda mineral do decorrer do estudo e queda no final, como nos grupos 11 e 31.

Os grupos com cavidades preparadas com laser com 5W e restauradas com CIVRM e RC (grupos 42 e 43 respectivamente) não apresentaram diferenças nos valores da perda de cálcio no decorrer do tempo experimental, mostrando um perfil homogêneo, porém com os maiores valores médios de perda de cálcio do estudo.

5.2.3 Análise Inferencial entre Técnica e Material no Tempo Total

A comparação entre os Grupos, considerando apenas o **Tempo total**, foi inicialmente feita de forma descritiva através do Gráfico da Figura 5.2 e posteriormente utilizando a técnica de ANOVA. Os resultados inferenciais

revelaram que os Grupos *não apresentaram estatisticamente a mesma perda média de cálcio* ($p=0,001$). Desta forma a comparação entre todos os Grupos foi feita através da técnica LSD, conforme resume a tabela 5.5.

11- alta-rotação CIV, 12- alta-rotação CIVRM, 13- alta-rotação RC;
 21- laser 3W CIV, 22- laser 3W CIVRM, 23- laser 3W RC;
 31- laser 4W CIV, 32- laser 4W CIVRM, 33- laser 4W RC;
 41- laser 5W CIV, 42- laser 5W CIVRM, 43- laser 5W RC.

Figura 5.2- Gráfico Boxplot da Perda de cálcio no **Tempo total** nos diferentes grupos experimentais

Tabela 5.5- Resultados inferenciais da comparação entre os Grupos no Tempo total

Grupos comparados		Conclusão	p
11	12	iguais	0,2756
11	13	11<13	0,0133
11	21	11>21	0,0326
11	22	11>22	0,0453
11	23	iguais	0,5270
11	31	iguais	0,9441
11	32	iguais	0,8728
11	33	iguais	0,4565
11	41	iguais	0,0953
11	42	iguais	0,8313
11	43	iguais	0,2680
12	13	12<13	0,0005
12	21	iguais	0,2876
12	22	iguais	0,3548
12	23	iguais	0,0864
12	31	iguais	0,2462
12	32	iguais	0,2117
12	33	iguais	0,7281
12	41	12<41	0,0064
12	42	iguais	0,3796
12	43	12<43	0,0293
13	21	13>21	0,0001
13	22	13>22	0,0001
13	23	iguais	0,0626
13	31	13>31	0,0161
13	32	13>32	0,0203
13	33	13>33	0,0015
13	41	iguais	0,4065
13	42	13>42	0,0074
13	43	iguais	0,1635
21	22	iguais	0,8895
21	23	21<23	0,0061
21	31	21<31	0,0275
21	32	21<32	0,0219
21	33	iguais	0,1593
21	41	21<41	0,0002
21	42	iguais	0,0537
21	43	21<43	0,0014
22	23	22<23	0,0090
22	31	22<31	0,0385
22	32	22<32	0,0310
22	33	iguais	0,2041
22	41	22<41	0,0003

continua

conclusão

22	42	iguais	0,0728
22	43	22<43	0,0022
23	31	iguais	0,5737
23	32	iguais	0,6364
23	33	iguais	0,1699
23	41	iguais	0,2968
23	42	iguais	0,3982
23	43	iguais	0,6330
31	32	iguais	0,9283
31	33	iguais	0,4154
31	41	iguais	0,1097
31	42	iguais	0,7771
31	43	iguais	0,2992
32	33	iguais	0,3660
32	41	iguais	0,1308
32	42	iguais	0,7091
32	43	iguais	0,3427
33	41	33<41	0,0167
33	42	iguais	0,5946
33	43	iguais	0,0655
41	42	iguais	0,0606
41	43	iguais	0,5702
42	43	iguais	0,1873

11- alta-rotação CIV, 12- alta-rotação CIVRM, 13- alta-rotação RC;
 21- laser 3W CIV, 22-- laser 3W CIVRM, 23- laser 3W RC;
 31- laser 4W CIV, 32- laser 4W CIVRM, 33- laser 4W RC;
 41- laser 5W CIV, 42- laser 5W CIVRM, 43- laser 5W RC.

Na análise inferencial das **concentrações totais** de cálcio perdido nas soluções desmineralizantes (ppm/mm²), no **tempo total** entre os grupos experimentais, pode ser observado que:

O *grupo 11* (preparo cavitário com alta-rotação e restauração com CIV) apresentou significativa *maior* valor médio total da perda de cálcio (10,89 ppm/mm²), portanto maior desmineralização no esmalte adjacente as

restaurações, em comparação com os *grupos 21* (laser 3W e CIV) (2,07 ppm/mm²) e *22* (laser 3W e CIVRM) (2,64 ppm/mm²); o grupo 11 apresentou significante *menor* valor médio total da perda de cálcio, portanto menor desmineralização, em comparação com o *grupo 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²); não apresentando diferenças significantes em comparação aos grupos 12 (AR e CIV) (6,42 ppm/mm²), 23 (Laser 3W e RC) (13,47 ppm/mm²), 31, 32 e 33 (laser 4W com CIV, CIVRM e RC respectivamente) (11,17; 11,54 e 7,84 ppm/mm² respectivamente).

O *grupo 12* (AR e CIVRM) apresentou significante *menor* valor médio total da perda de cálcio (6,42 ppm/mm²), portanto menor desmineralização no esmalte adjacente as restaurações, em comparação com os *grupos 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²), *41 e 43* (laser 5W e CIV e RC respectivamente) (17,74 e 15,42 ppm/mm² respectivamente), e valores estatisticamente similares em comparação com os demais grupos experimentais (figura 5.2 e tabela 5.5).

Analisando o gráfico Boxplot da figura 5.2 pode-se observar que o grupo 12 apresentou valores ligeiramente abaixo da linha de valor zero, que são valores negativos, portanto com ganho de cálcio, e a maior parte dos valores e a mediana estão acima do valor zero, portanto valores positivos, que significa perda de cálcio; ainda observa-se pelo gráfico, em comparação com os valores dos grupos 11 e 13, que o grupo 12 apresentou os menores valores de perda de cálcio, pois seus valores estão distribuídos o mais próximo da linha de valor zero.

O *grupo 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²) apresentou significante maior valor médio total da perda de cálcio, portanto maior perda mineral, em comparação com os *grupos 11 e 12* (AR e CIV e CIVRM respectivamente) (10,89 e 6,42 ppm/mm² respectivamente), *21 e 22* (laser 3W e CIV e CIVRM respectivamente) (2,07 e 2,64 ppm/mm² respectivamente), *31, 32 e 33* (laser 4W e CIV, CIVRM e RC respectivamente) (11,17; 11,54 e 7,84 ppm/mm² respectivamente) e *42* (laser 5W e CIVRM) (10,02 ppm/mm²); não apresentando diferenças significantes em relação aos demais grupos (23, 41 e 43), como observado no gráfico da figura 5.2 e na tabela 5.5.

Em se tratando do *grupo 21* (preparo cavitário com laser de Er,Cr:YSGG com 3W e restauração com CIV) (2,07 ppm/mm²) este apresentou significante *menor* média da perda de cálcio em relação aos *grupos 11 e 13* (AR e CIV e RC respectivamente) (10,89 e 21,14 ppm/mm² respectivamente), *23* (laser 3W e RC) (13,47 ppm/mm²), *31 e 32* (laser 4W e CIV e CIVRM respectivamente) (11,17 e 11,54 ppm/mm² respectivamente) e *41e 43* (laser 5W e CV e RC respectivamente) (17,74 e 15,42 ppm/mm² respectivamente). O grupo 21 não apresentou diferenças em relação aos grupos 12, 22, 33, 42 (gráfico da figura 5.2 e tabela 5.5).

O grupo 22 (laser 3W e CIVRM) (2,64 ppm/mm²) apresentou significante menor valor médio total da perda de cálcio em relação aos grupos *11 e 13* (AR e CIV e RC respectivamente) (10,89 e 21,14 ppm/mm² respectivamente), *23* (laser 3W e RC) (13,47 ppm/mm²), *31 e 32* (laser 4W e CIV e CIVRM respectivamente) (11,17 e 11,54 ppm/mm² respectivamente) e *41e 43* (laser 5W e CV e RC respectivamente) (17,74 e 15,42 ppm/mm² respectivamente).

O grupo 22 não apresentou diferenças em relação aos grupos 12, 21, 33 e 42. Como pode se observar no gráfico da figura 5.2 e na tabela 5.5., os grupos 21 e 22 apresentaram um comportamento semelhante no tempo total do experimento.

O grupo 23 (laser 3W e RC) (13,47 ppm/mm²) apresentou valor médio total da perda de cálcio similar em relação aos grupos experimentais como observado na tabela 5.5.

Analisando o gráfico Boxplot da figura 5.2 pode-se observar que os grupos com preparo com laser Er,Cr:YSGG com 3W e restaurados com CIV e CIVRM (21 e 22) apresentaram valores abaixo e acima da linha de valor zero, portanto apresentando valores negativos (ganho de cálcio) e positivos próximos do zero (baixos valores de perda de cálcio); pode-se constatar uma reduzida variabilidade entre as unidades amostrais, pela extensão dos quartis tanto abaixo e acima da mediana. Quanto ao grupo 22 (laser 3W e RC), este apresentou baixa variabilidade das unidades amostrais abaixo da mediana, valores da perda de cálcio acima de zero, portanto positivos, maiores que os grupos 21 e 22, intermediários e similares a outros grupos.

O grupo 31 (laser 4W e CIV) (11,17 ppm/mm²) apresentou *significante menor* valor médio total da perda de cálcio em comparação com o *grupo 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²), e *significante maior* valor médio total da perda de cálcio em relação aos *grupos 21 e 22* (laser 3W e CIVRM) (2,64 ppm/mm²), não apresentando diferenças em relação aos demais grupos com alta-rotação ou laser (tabela 5.5).

O *grupo 32* (laser 4W e CIVRM) (11,54 ppm/mm²) apresentou *significante menor* valor médio total da perda de cálcio em comparação com o *grupo 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²), e *significante maior* valor médio total da perda de cálcio em relação aos *grupos 21 e 22* (laser 3W e CIVRM) (2,64 ppm/mm²), não apresentando diferenças em relação aos demais grupos experimentais, portanto o grupo 32 *apresenta o mesmo perfil* que o grupo 31.com alta-rotação ou laser.

O *grupo 33* (laser 4W e RC) (7,84 ppm/mm²) apresentou *significante menor* valor médio total da perda de cálcio, menor demineralização, que os *grupos 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²) e *41* (laser 5W e CIV) (17,74 ppm/mm²), e não apresentou diferenças significantes com os demais grupos.

O *grupo 41* (laser 5W e CIV) (17,74 ppm/mm²) apresentou *significante maior* valor médio total da perda de cálcio em comparação aos *grupos 12* (AR e CIVRM) (6,42 ppm/mm²), *21 e 22* (Laser 3W e CIV e CIRM respectivamente) (2,07 e 2,64 ppm/mm² respectivamente) e *33* (laser 4W e RC) (7,84 ppm/mm²), não apresentando diferenças em relação aos demais grupos. O *grupo 42* (laser 5W e CIVRM) (10,02 ppm/mm²) apresentou *significante menor* valor total médio da perda de cálcio em comparação com o *grupo 13* (AR e RC) (21,14 ppm/mm²); não apresentando diferenças em relação aos demais grupos como observado na tabela 5.5.

Figura 5.3 – Imagens ilustrativas em lupa estereoscópica (10X) das amostras dos diferentes grupos experimentais (11, 12, 13, 21, 22 e 23) após imersão na solução desmineralizadora

Figura 5.4 – Imagens ilustrativas em lupa estereoscópica (10X) das amostras dos diferentes grupos experimentais (31, 32, 33, 41, 42 e 43) após imersão na solução desmineralizadora

6 DISCUSSÃO

A prática e valorização de uma *Odontologia baseada em evidências científica* trouxeram embasamento para o desafio, questionamento e mudanças de paradigmas na Odontologia Restauradora, com a adoção de uma "Filosofia de Mínima Intervenção", baseada na prevenção, controle e tratamento da *Doença Cárie*, e não somente o tratamento restaurador das lesões de cárie, isto é, a manifestação clínica da doença (IMPARATO; ROCHA; RAGGIO, 2003; MICKENAUTSCH et al., 2006; PETERS; McLEAN, 2001).

Quanto aos procedimentos restauradores, o surgimento e evolução dos materiais adesivos contribuíram para a realização de cavidades minimamente invasivas e com maior conservadorismo da estrutura dental remanescente. A utilização de materiais restauradores com liberação de fluoretos, como o cimento de ionômero de vidro, em diferentes composições e aplicações clínicas, tem demonstrado sua capacidade na redução da perda mineral e formação de lesões de cárie secundária (FEATHERSTONE, 2000; FORSTEN, 1990; FORSTEN, 1991; GAO; SMALES; YIP, 2000; RAGGIO, 2001; RODRIGUES, 2003; RUTAR; MCALLAN, TYAS, 2000; SERRA, 1995).

Várias técnicas alternativas são indicadas na realização de preparos cavitários, destacando-se os lasers em alta intensidade de Er:YAG (2940nm) e Er,Cr:YSGG (2780nm) (COZEAN et al., 1997; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; MATSUMOTO et al, 2002; PETERS; McLEAN, 2001; WIGDOR et al., 1993), que

devido a alta absorção destes comprimentos de onda pela água (Er:YAG e Er,Cr:YSGG) e radical hidroxila da hidroxiapatita (Er,Cr:YSGG), presentes na composição dos tecidos mineralizados dentais, promovendo a efetiva remoção do tecido cariado e esmalte, dentina e cimento, pelo aumento da temperatura na superfície do substrato dental, desencadeando o *processo foto mecânico de ablação* (ANA, 2007; APEL et al., 2002a; BACHMANN; ZECELL, 2005; CORONA et al., 2007a; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; HIBST; KELLER, 1989; HADLEY et al., 2000; HARASHIMA et al., 2005; HOSSAIN et al., 1999; WIGDOR et al., 2003).

São lasers indicados na realização de preparo cavitários para restaurações com materiais adesivos (resina composta e cimento de ionômero de vidro), com a criação de verdadeiras “adequações cavitárias”, isto é, cavidades conservadoras, devido à interação da energia eletromagnética do laser com os cromóforos da estrutura dental, levando a remoção seletiva (pontual) do tecido cariado (BACHMANN; ZECELL, 2005; HOSSAIN et al., 1999), indo de encontro aos conceitos atuais da “mínima intervenção” e máximo conservadorismo da estrutura dental (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; MATSUMOTO et al, 2002; PETERS; McLEAN, 2001).

Tais comprimentos de onda laser próximos ao 3µm também podem ser indicados após a realização de preparos cavitários convencionais (previamente a restaurações diretas ou cimentação de indiretas) (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; STABHOLZ et al., 2003), visando promover a remoção final do tecido cariado, redução microbiana e modificação estrutural do substrato.

Deve questionar *os efeitos térmicos dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG na estrutura dental irradiada*, levando a alterações morfológicas (cristalográficas) e/ou composicionais (químicas) no esmalte e dentina (APFELBAUM; MAYER; FEATHERSTONE, 1990; BACHMANN; ZECELL, 2005; FEATHERSTONE; FRIED, 2001; FOWLER; KURODA, 1986; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; FRIED et al., 1996; HSU et al., 2001; HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002a; HOSSAIN et al., 2003; KAWASAKI; TANAKA; TAKAGI, 2000; KWON et al., 2005; YU et al., 2000), e a sua interação com os diferentes materiais restauradores, o íon flúor e a formação de lesões de cárie secundária.

Estudos sugerem um potencial preventivo destes lasers, através da redução da desmineralização e formação de lesões de cárie, bem como sua interação com os produtos fluoretados (ANA, 2007; APEL et al., 2004; BEVILACQUA, 2002; CASTELLAN et al., 2007; CEBALLOS et al., 2000; CECCHINI, 2001; DELBEM et al., 2003; DOMINGUES, 2003; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 2000; HOSSAIN et al., 2001a; HOSSAIN et al., 2002a; HSU et al., 2001; KAYANO et al., 1991; KWON et al., 2005; LIU; LIU; STEPHEN, 2006; MORIOKA; TAGOMORI; NARA, 1989; MORIOKA; TAGOMORI; OHO, 1991; NARA et al., 1990; TASHIMA, 2006; WATANABE et al., 1998), enquanto outros estudos questionam os protocolos e a efetividade destes lasers na sua ação anticariogênica (APEL et al., 2002b; APEL et al., 2005; APEL; SCHAFER; GUTKNECHT, 2003).

Dentro deste contexto, a proposição do presente estudo foi avaliar a perda de cálcio no esmalte adjacente a cavidades preparadas com alta-

rotação e laser de Er,Cr:YSGG, utilizando diferentes radiâncias (densidades de energia), e estas restauradas com materiais liberadores ou não de flúor, como o cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade (CIV), o cimento de ionômero de vidro resino modificado (CIVRM) e a resina composta (RC), após imersão das amostras em solução desmineralizadora e desafio ácido.

Estudos prévios realizados por Ana (2007), Cozean et al. (1997), Eversole, Rizioiu e Kimmel (1997), Freitas (2005), Geraldo-Martins et al. (2005), Pelagalli et al. (1997), Tanji (2002), Wang e Matsumoto (2005) e Wigdor et al. (1993) mostraram através de análises histológicas do tecido pulpar e mensurações em câmaras termográficas e termopares, em dentes irradiados pelos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG, quais os parâmetros e protocolos de radiação e refrigeração são seguros e efetivos, para a realização de preparos cavitários e não ocorrência de iatrogenias, e danos irreversíveis para polpa e estrutura dental remanescente, atingindo temperaturas intrapulpar seguras para manutenção da vitalidade pulpar como descrito por Zach e Cohen (1965).

No presente estudo foram utilizados diferentes potências e radiâncias do laser de Er,Cr:YSGG para realização dos preparos cavitários, 3W (150mJ/ 20Hz/ 53,05 J/cm²), 4W (200mJ/ 20Hz/ 70,74 J/cm²) e 5W (260mJ/ 20Hz/ 88,43 J/cm²), com refrigeração de 65% de ar e 55% de água, seguindo protocolos previamente estabelecidos por estudos de Aranha et al. (2007), Eversole e Rizioiu (1995), Eversole, Rizioiu e Kimmel (1997), Geraldo-Martins (2007), Hadley et al. (2000), Hossain et al. (1999), Hossain et al. (2002b), Matsumoto et al. (2002), Moldes (2003), Rizioiu et al. (1998) e Wang e Matsumoto (2005).

Em relação às alterações morfológicas promovidas pelos lasers na estrutura dental após a realização de preparos cavitários, estudos realizados com laser de Er:YAG, por Cecchini (2001), Corona et al. (2007a, 2007b), Freitas et al. (2007), Mello et al. (2006), Navarro (2001) e Tanji (2002); e com laser de Er,Cr:YSGG, por Geraldo-Martins (2007), Harashima et al. (2005), Hossain et al. (1999), Hossain et al. (2002a, 2002b), Kimura et al. (2001), Lin et al. (1998) e Yu et al. (2000) mostraram que o processo termo mecânico de ablação promove, pela análise das fotomicrografias em MEV, a criação de um padrão morfológico com ausência da *smear layer*, irregularidade superficial como “escamas”, exposição dos prismas de esmalte, abertura dos túbulos dentinários, criando um padrão microretentivo, com maior distinção entre as dentinas peri e intertubular pela formação de um colar de dentina peritubular protruindo da superfície dentinária. Em contrapartida, a alta-rotação e o instrumento cortante rotatório criam uma superfície recoberta pela camada de esfregaço, obliterando prismas de esmalte e túbulos dentinários.

Apesar de estas alterações morfológicas sugerirem a criação de um substrato com *aumento da área de superfície*, e favorecer a adesão, não elimina a necessidade do condicionamento com ácido fosfórico, poliacrílico ou *primers* auto-condicionantes, visando promover a desmineralização parcial ou total do substrato dental, aumento da energia de superfície e porosidade, e a partir daí, maior molhabilidade e infiltração do material adesivo ou ionomérico, com a formação dos *tags* e camada híbrida, e conseqüente maior embricamento micro mecânico com o substrato dental

(BORSATTO et al., 2004; CORONA et al., 2003; CORONA et al., 2007a; GERALDO-MARTINS, 2007; HARASHIMA et al., 2005; HOSSAIN et al. 2002b; LIN et al., 1998; NAVARRO, 2001; TANJI, 2002; VISURI; WALSH; WIGDOR, 1996).

Os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG promovem uma “interação seletiva” com a dentina, apresentando uma maior absorção e remoção da dentina intertubular, por esta apresentar maior concentração de água, evidenciando as dentinas peri e intertubular, com a protrusão da dentina peritubular. Tais efeitos termo mecânicos podem levar a alterações térmicas no componente orgânico da dentina intertubular, formado pela rede de fibrilas colágenas, podendo gerar na decomposição, degradação ou colapso da rede colágena (BACHMANN et al., 2005; BENAZZATO; STEFANI, 2003; FARMAKIS; KONTAKIOTIS; KOUVELAS, 2001; HSU et al., 2001; YING; CHUAH; HSU, 2004).

Estas alterações morfológicas e químicas e a formação de uma “camada de colágeno modificada” poderão dificultar a interação e penetração dos monômeros resinosos adesivos e a hibridização do substrato, prejudicando a adesão, e podendo levar as falhas de união ou maior microinfiltração e degradação na interface ao longo do tempo (ARANHA et al., 2007; CEBALLOS et al, 2001; CORONA et al., 2003; CORONA et al., 2007b; GERALDO-MARTINS, 2007; HARASHIMA et al., 2005; HOSSAIN et al., 2002b; KIMURA et al., 2001; NAVARRO, 2001).

Além disso, estas alterações ultra-estruturais, de natureza morfológica e/ou composicional, podem interferir na interação físico-química dos materiais resinosos e sistemas adesivos, principalmente aqueles que

apresentam monômeros com união química ao substrato mineral, e os cimentos de ionômero de vidro, tanto convencional como o resino modificado, que apresentam interação e ligação química ao carbonato da estrutura mineral dental como descrito nos estudos de Aranha et al. (2007), Borsatto et al. (2006), Ceballos et al. (2001), Chinelatti et al. (2004), Geraldo-Martins (2007), Hossain et al. (2002a), Moldes (2003), Navarro (2001).

Muito se questiona sobre a interação dos materiais ionoméricos e sistemas adesivos ao substrato dental irradiado pelos lasers de Er:YAG, e mais recentemente, Er,Cr:YSGG, principalmente quanto a resistência de união, microinfiltração das restaurações e morfologia da interface adesiva.

No estudo de Ekworapoj, Sidhu e McCabe (2007) foram observados maiores valores de resistência de união, pelo teste de microtração, dos substratos dentinários preparados com laser de Er,Cr:YSGG, e tratados com ácido poliacrílico, e restaurados com CIV (Ketac Molar e Fuji IX) em comparação àqueles que não receberam tratamento com o ácido, sendo observado um predomínio e padrões de fraturas mistas ou coesivas no CIV. Segundo os autores, as possíveis alterações foto térmicas e foto mecânicas promovidas pelo laser, podem levar a redução nas concentrações de água, formação de compostos mais ácidos resistentes, ou na degradação da rede de fibrilas colágenas, interferindo e até prejudicando a molhabilidade, penetração e interação dos materiais ionoméricos ao substrato irradiado, assim a ação do ácido poliacrílico seria de modificar este substrato alterado, e aumentar sua permeabilidade, como descrito também por Bachmann et al. (2005), Hsu et al. (2000) e Mello et al. (2006).

Mello et al. (2006) mostrou a efetividade na remoção de lesões de cárie radicular, induzidas por modelo microbiológico, e preparo cavitário com o laser de Er:YAG, com menor grau de infiltração nas cavidades preparadas com o laser e restauradas com o CIVRM, em comparação ao ICR e o CIV convencional. Em concordância com estudos de Hossain et al. (2002a) e Moldes (2003) que utilizaram o laser de Er,Cr:YSGG, que mostraram melhor selamento marginal nas cavidades preparadas com laser e redução da microinfiltração. Discordando dos estudos de Ceballos et al. (2001) e Chinelatti et al. (2004), que mostraram maior infiltração nas cavidades preparadas com laser de Er:YAG, em comparação com alta-rotação.

No presente estudo foram seguidos os protocolos restauradores de tratamento do esmalte e da dentina com ácido fosfórico por 15s, para aplicação do sistema adesivo e restauração com resina composta, ou tratamento com ácido poliacrílico por 10s, para restauração com cimento de ionômero de vidro (BORSATTO et al., 2004; BORSATTO et al., 2006; CARVALHO et al., 2004a; CHINELATTI et al., 2004; EKWORAPOJ; SIDHU; MCCABE, 2007; MELLO et al., 2006; NASSIF, 2003; NAVARRO; PASCOTTO, 1998; RAGGIO, 2001; VAN MEERBEECK et al., 2003).

Os estudos realizados até o presente momento avaliaram o mecanismo de interação e a durabilidade dos materiais restauradores adesivos existentes no mercado, com o substrato dental irradiado e modificado pelos lasers de Er:YAG ou Er,Cr:YSGG, no entanto estes materiais foram *originalmente* desenvolvidos e testados pelos fabricantes para serem utilizados nos tecidos dentais removidos e modificados pelos instrumentos

cortantes rotatórios, mostrando muitas vezes valores similares ou não satisfatórios quando da utilização dos lasers.

Provavelmente a partir de estudos ultra-estruturais, de biologia molecular e química, poderia se pensar *na criação de materiais adesivos*, com composição química de solventes e monômeros resinosos, que apresentem uma interação específica ao substrato modificado química e morfologicamente pelos efeitos térmicos dos lasers.

Apesar do objetivo do presente estudo não ter sido avaliar a microinfiltração nas restaurações é importante destacar que a durabilidade clínica de uma restauração, a ocorrência de microinfiltração marginal, a recidiva de lesão de cárie, são altamente dependentes das *propriedades dos materiais restauradores, e sua interação com a estrutura dental preparada*. São vários fatores que devem ser considerados, inerentes ou não ao operador e material, controláveis ou não durante o procedimento restaurador, e após a restauração estar terminada e submetida aos desafios mecânicos, térmicos, cariogênicos na cavidade bucal (DOMINGUES, 2003; KIDD, 1978; KIDD; TOFFENETTI; MJÖR, 1992; KIDD; FEJERSKOV, 2004; KLEIN et al., 2005; GERALDO-MARTINS, 2007; HARA et al., 2002; SERRA; PIMENTA; PAULILLO, 1997).

De acordo com Featherstone (1996) a formação de uma fenda na interface dente-restauração, que pode levar anos para se formar *in vivo*, se os fatores etiológicos para doença cárie não estiverem controlados pelo paciente, e na presença de um processo de lesão de cárie incipiente e ativa no esmalte adjacente à restauração, pode não somente promover uma

microinfiltração (penetração de pigmentos do meio bucal, bactérias, ácidos e toxinas microbianas, acelerando a degradação na interface dente-restauração) e possibilitar uma *mais rápida progressão da lesão de cárie*, do esmalte externo para as paredes cavitárias internas em dentina, e desenvolver uma lesão de parede.

Nestas situações *de alto risco ou atividade de cárie*, as propriedades favoráveis do material restaurador escolhido *são altamente solicitadas*, como liberação de fluoreto (CIV e CIVRM), depósitos de produtos de corrosão (amálgama), adesão (RC, CIV e CIVRM) possibilidade expansão higroscópica (RC) ou a similaridade do coeficiente de expansão térmico linear (CETL) com a estrutura dental (CIV), em contra partida, as propriedades indesejáveis também se tornam *mais evidentes*, como a degradação marginal (RC), a contração de polimerização (RC), diferenças no CETL (RC e amálgama), perda e ganho de água (CIV), suscetibilidade de técnica (RC e CIVRM), degradação hidrolítica da interface adesiva (RC) (BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; GERALDO-MARTINS, 2007; KIDD; TOFFENETTI; MJÖR, 1992; RODRIGUES, 2003; SERRA, 1995; WIEGANDA; BUCHALLA; ATTINA, 2007).

As propriedades mecânicas dos materiais tornam-se mais evidentes nas áreas de maiores esforços mastigatórios, como nos dentes posteriores, podendo levar a fraturas, com variadas extensões, ou desgaste superficial e solubilização; neste aspecto as resinas compostas apresentam propriedades mecânicas superiores aos materiais ionoméricos (CIV convencional, de alta viscosidade, ou resino-modificado), por sua vez, os CIV de alta viscosidade

indicados para o ART e os CIVRM apresentam maior resistência mecânica que os CIV convencionais devido a alteração na proporção pó-líquido na composição dos CIV de alta viscosidade, e à presença de uma matriz resinosa hidrófoba de Bis-GMA e cargas vítreas na composição dos cimentos de ionômero de vidro resino-modificado (CIVRM), conferindo melhora nas propriedades físicas destes materiais (BOMBONATTI, 2004; BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; FORSTEN, 1990; FORSTEN, 1991; NAVARRO; PASCOTTO, 1998; RAGGIO, 2001; RODRIGUES, 2003; RUTAR; MACALLAN; TYAS, 2000; SERRA, 1995; YAP; PEK; CHEANG, 2003; YAP; TEO; TEOH, 2001; YIP; LAM; SMALES, 1999) sendo que o CIV de alta viscosidade é indicado em restaurações Classe I oclusais, como no Tratamento Restaurador Atraumático (ART), apresentando resistência similar ao amálgama, porém limitações de durabilidade em cavidades Classe II (FRENCKEN; HOLMGREN, 1999; FRENCKEN et al., 2004; RAGGIO, 2001, 2004; RODRIGUES, 2003).

Os materiais adesivos e resinosos apresentam maior suscetibilidade de microinfiltração e degradação marginal, principalmente em dentina, ao passo que os materiais ionoméricos, como o CIV e CIVRM, se apresentam menos críticos e quando da sua ocorrência, os microrganismos na interface dente/restauração não se apresentam viáveis (GAO; SMALES; YIP, 2000; KALF-SCHOLTE et al., 2003; RAGGIO, 2001; RODRIGUES, 2003; RUTAR; MACALLAN; TYAS, 2000; TYAS, 1991; WIEGANDA; BUCHALLA; ATTINA, 2007).

Outro fator importante é que para que ocorra a ação e penetração do íon flúor na interface dente-restauração, e sua presença no interior da camada híbrida, depende da ocorrência de uma fenda na interface, e

principalmente da degradação e aumento da permeabilidade da camada híbrida (FEATHERSTONE, 2000; PEREIRA; INOGOSHI; TAGAMI, 1998; RAGGIO, 2001; RODRIGUES, 2003; SERRA, 1995).

Quanto aos cimentos de ionômero de vidro (CIV) são os materiais que apresentam propriedades como adesão química e micromecânica à estrutura dental, biocompatibilidade, liberação de fluoreto e coeficiente de expansão térmico-linear similar à dentina (BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; NAVARRO, PASCOTTO, 1998; RAGGIO, 2001). Apresentam algumas desvantagens como reduzido tempo de trabalho, alta susceptibilidade à perda (sinérese) e ao ganho (embebição) de água nas primeiras 24 horas, longo tempo de reação de presa, baixa resistência mecânica (compressão e desgaste) (BOMBONATTI, 2004; BUSSADORI et al., 2003; NAVARRO, PASCOTTO, 1998; PEREIRA et al., 1998).

A sua reação de presa ocorre nas primeiras 24 horas, período que o material ainda não apresenta propriedades mecânicas de maneira integral, e há sua maior solubilização no meio bucal. Por esta razão, o material precisa ser recoberto por algum agente protetor, destacando os melhores resultados com o esmalte de unha e adesivos fotopolimerizáveis, seguido do verniz cavitário, e pela vaselina (BRITTO, 2006; NAVARRO; PASCOTTO, 1998; RAGGIO, 2004).

No presente estudo optou-se pela proteção com vaselina líquida em todos os materiais restauradores, visando padronizar um único material de proteção superficial, e não originar mais um fator de variação no

experimento, bem como levar o CIV as condições mais críticas quanto à solubilização em meio ácido (BRITTO, 2006; NAVARRO, PASCOTTO, 1998).

No início dos anos 80, foram desenvolvidos os chamados CIV de alta viscosidade para serem utilizados no Tratamento Restaurador Atraumático (ART). Estes apresentam mudanças na composição (com adição de ácido poliacrílico no pó, aumento da proporção pó-líquido, incorporação de partículas de carga) e nas suas características físicas, levando a redução do tempo de presa (pelo aumento na quantidade de ácido tartárico, o qual é um acelerador de presa do material), maior viscosidade, facilidade de manipulação e inserção, e assim redução da presença de bolhas no interior, que levam a sua fragilização, menor solubilidade ao meio bucal, aumento das propriedades mecânicas, com redução do desgaste superficial, e melhoria da resistência compressiva (BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; BUSSADORI et al., 2003; FRENCKEN; HOLMGREN, 1999; FRENCKEN et al., 2004; IMPARATO, 2005; NAVARRO; PASCOTTO, 1998; PEREIRA et al., 1998; RAGGIO, 2001, 2004; RUTAR; MACALLAN; TYAS, 2000; TYAS, 1991; UEMATSU et al., 1999; YAP; PEK; CHEANG, 2003; YAP; TEO; TEOH, 2001; YIP; LAM; SMALES, 1999).

Estudo de Peutzfeldt, Garcia-Godoy e Asmussen (1997) mostrou que os CIV de alta viscosidade, com o aumento da proporção pó-líquido apresentaram menor desgaste superficial em comparação aos cimentos de ionômero de vidro resino modificados (CIVRM). O desgaste do material apresenta correlação negativa com sua dureza superficial, positiva com sua solubilização, e, portanto correlação positiva com a liberação de flúor

(BERTACCHINI et al., 1999; BUSSADORI et al., 2003; RAGGIO, 2001; UEMATSU et al., 1999; YIP; LAM; SMALES, 1999).

A liberação de flúor nos cimentos de ionômero de vidro é maior nas primeiras 24 horas, decrescendo na primeira semana, sendo uma queda rápida até o 2º ou 3º dia, e depois lenta até o 7º dia, e nas semanas subsequentes esta liberação é estabilizada, sendo observada por semanas e até meses (BOMBONATTI, 2004; BUSSADORI et al., 2003; RAGGIO, 2001; FORSTEN, 1990; TENUTA et al., 1997; UEMATSU et al., 1999), sendo que nos meios ácidos, a liberação do íon flúor dos materiais ionoméricos é maior como descrito por Carvalho e Cury (1999).

Este padrão de liberação de flúor dos CIV e sua reação de presa, inicial e tardia, e a possibilidade de saturação das soluções, determinaram a escolha do tempo de troca das soluções desmineralizadoras em 1, 3 e 7 dias no presente experimento.

Os cimentos de ionômero de vidro de alta viscosidade desenvolvidos para o ART apresentam menor liberação de flúor ao longo do tempo, em comparação aos CIV convencionais (RAGGIO, 2001; UEMATSU et al., 1999; YIP; LAM; SMALES, 1999), pois esta ocorre às expensas da degradação e solubilidade do cimento, que é menor nos CIV de alta viscosidade (BERTACCHINI et al. 1999; FORSTEN, 1990; RAGGIO, 2001; ROTHWELL; ANSTICE; PEARSON, 1998; YAP; TEO; TEOH, 2001; YAP; PEK; CHEANG, 2003; YIP; LAM; SMALES, 1999).

Os cimentos de ionômero de vidro resino-modificado (CIVRM) apresentam menor liberação do íon flúor, inicial e ao longo do tempo, em

comparação aos CIV convencionais, e comportamento similar aos CIV de alta viscosidade como descrito por Dionysopoulus et al. (1998), Gonzalez, Yap e Hsu (2004), Kielbassa, Muller e Garcia-Godoy (1999), Lobo et al. (2005), Okuda et al. (2003), Rodrigues (2003), Serra (1995), Serra e Cury (1992), Takahashi, Emilson e Birkhed (1993). Isto se deve ao aumento das propriedades mecânicas dos CIV de alta viscosidade para ART e dos CIVRM.

No caso dos CIVRM há a redução da sua solubilização, embebição e sinérese, por ser um material híbrido, com tripla reação de presa (fotopolimerizável dos componentes resinosos, ácido-base da porção ionomérica, e uma reação na ausência de luz) (NAVARRO; PASCOTTO, 1998), e apresentar uma matriz resinosa (Bis-GMA) hidrófoba, que dificulta a saída e entrada de água, associada com cargas vítreas que aumentam a sua resistência mecânica, além de conferir melhores propriedades estéticas (BOMBONATTI, 2004; BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000).

Quanto à ação anticariogênica os CIVRM apresentam um comportamento similar aos CIV de alta viscosidade indicados para ART, como observado por Dionysopoulus et al. (1998), Gonzalez, Yap e Hsu (2004), Hara et al. (2002), Kielbassa, Muller e Garcia-Godoy (1999), Kotsanos (2001), Lobo et al. (2005), Okuda et al. (2003), Rodrigues (2003), Serra (1995), Serra e Cury (1992), Smales e Gao (2000), Takahashi, Emilson e Birkhed (1993), Uematsu et al. (1999) e Yip, Lam e Smales (1999) que mostraram maior efeito cariostático, com menor desmineralização ou extensão de lesão, para os materiais ionoméricos em relação aos resinosos.

Em contra partida, estudos de Hara et al. (2002), Pereira, Inogoshi e Tagami (1998), Pereira et al. (1998) e Rodrigues et al. (2005) mostraram maior potencial anti cariogênico dos CIV para ART que o CIVRM, e o estudo de Kotsanos et al. (2001) mostrou maior porcentagem de volume mineral e menor formação de lesão nas restaurações de Vitremer em comparação ao Ketac Molar, e ambos superiores à resina composta. Mostrando resultados muitas vezes conflitantes, como mostrou a revisão realizada por Wieganda, Buchalla e Attina (2007).

A utilização de materiais restauradores que apresentam a capacidade de liberação e recarregamento de flúor do meio bucal, como os cimentos de ionômero de vidro convencionais e resino-modificado é uma importante estratégia na prevenção e controle da desmineralização do esmalte, e formação de lesões de cárie nos tecidos dentais circundantes aos materiais restauradores (BENELLI; SERRA; RODRIGUES, 1993; CARVALHO; CURY, 1999; FEATHERSTONE, 1999; HICKS et al., 2003; PEREIRA et al., 1998; SERRA et al., 1995; SERRA; CURY, 1992; RODRIGUES, 2003).

O mecanismo dinâmico dos fluoretos levam a redução da taxa de desmineralização e aumento da remineralização, diminuindo o pH crítico necessário que ocorra a desmineralização do esmalte, tendo um importante papel *preventivo e terapêutico em relação à cárie dental*, reduzindo a incidência de lesões iniciais ou secundárias e a severidade destas, atuando no controle/paralisação das lesões de cárie ativa, e diminuindo a probabilidade de uma lesão avançar até atingir a sua cavitação

(CARVALHO; CURY, 1999; DELBEM; CURY, 2002; RODRIGUES, 2002; SERRA, 1995).

Assim, apesar do presente estudo não ter avaliado as concentrações de fluoretos nas soluções desmineralizadoras, a partir da liberação pelos materiais ionoméricos, sua presença no meio interfere de maneira *decisiva e direta* no mecanismo DES-RE, na desmineralização do esmalte adjacente às restaurações e na formação da lesão de cárie.

Os cimentos de ionômero de vidro (CIV) liberam o íon flúor mais facilmente, e em maior quantidade, que outros materiais que contém polímeros fluoretados. A maior quantidade é liberada pelos CIVs convencionais e modificados por resina, variando entre 40 e 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (FORSTEN, 1990; RODRIGUES, 2003), enquanto as resinas liberam quantidade menor, dependendo do tipo e quantidade de fluoreto incorporado; a maioria libera ao redor de 5 a 20% dos cimentos de ionômero de vidro (DIJKMAN et al., 1993; GLASSPOOLE; ERICKSON, 1993; RODRIGUES, 2003).

No presente estudo, a análise inferencial mostrou haver efeito de interação entre o Tempo, Técnica e Material ($p < 0,0001$), isto é, há diferenças estatisticamente significantes entre estas variáveis.

Foram realizadas as comparações entre Técnica e Material, nos diferentes tempos experimentais (1, 3 e 7 dias), tais análises não serão discutidas, mas possibilitaram a realização de uma outra análise inferencial, que mostrou o comportamento de uma mesma Técnica e Material, no decorrer dos tempos, como pode ser observado no gráfico da figura 5.1 e no Apêndice A que trazem o resumo dessas comparações.

Avaliando o comportamento dos **diferentes grupos (técnica e material) no decorrer do tempo experimental** pode-se observar que no grupo de preparo cavitário realizado com alta-rotação e restaurado com CIV (grupo 11) apresentou **significante menor valor médio da perda de cálcio no 1º dia em comparação ao 3º dia**, não foi observada diferenças entre o 1º e 7º dias, e o 3º dia apresentou maior valor que o 7º dia. Este comportamento pode estar relacionado à reação de presa, inicial e tardia, a solubilização e liberação de pelos CIV de alta viscosidade, que irão interferir diretamente no processo DES-RE.

Apesar de ter sido utilizado um CIV de alta viscosidade indicado para ART (Ketac Molar Easy Mix), que apresentam maiores propriedades mecânicas, menor solubilização e redução do tempo de presa (Bussadori et al., 2003; Raggio, 2004), estes materiais têm capacidade de liberar e recarregar flúor, principalmente em meio de pH baixo como destacado por Raggio (2001), Uematsu et al. (1999), Rodrigues (2003), Yap, Pek e Cheang (2003) e Yip, Lam e Smales (1999); pode-se inferir que no presente estudo frente ao desafio ácido (pH 4,8), houve maior degradação e alta liberação de flúor no primeiro dia, período crítico da reação de presa inicial, e possível queda e estabilização na liberação de flúor em até uma semana, com a continuidade da reação de presa e aumento nas propriedades mecânicas, como descrito previamente por Bombonatti (2004), Forsten (1990), Raggio (2001, 2004), Tenuta et al. (1997), Uematsu et al. (1999) e Yip, Lam e Smales (1999).

O grupo de preparos cavitários com alta-rotação e CIVRM (grupo 12) apresentou menor perda de cálcio no 1º dia em comparação aos 3º e 7º dias, como também entre o 3º e 7º dias, tendo um perfil tipicamente ascendente no decorrer do tempo, começando com um ganho médio de cálcio (valor negativo) (24h), depois com o passar do tempo, e dos sucessivos desafios ácidos (3 e 7 dias), apresentou uma perda de cálcio, como mostram a figura 5.1 e a tabela do Apêndice A.

Este perfil mostra que o material CIVRM (Vitremer) teve um bom comportamento em relação à perda de cálcio, isto corrobora com a literatura, mostrando que este material apresenta liberação de flúor e ação anti cariogênica inferior aos CIV convencionais, porém similar aos CIV de alta viscosidade para ART, como mostraram estudos de Dionysopoulus et al. (1998), Gonzalez, Yap e Hsu (2004), Hara et al. (2002), Kielbassa, Muller e Garcia-Godoy (1999), Kotsanos (2001), Lobo et al. (2005), Okuda et al. (2003), Rodrigues (2003), Serra (1995), Serra e Cury (1992), Smales e Gao (2000), Takahashi, Emilson e Birkhed (1993), Uematsu et al. (1999) e Yip, Lam e Smales (1999).

Avaliando a resina composta nos preparos cavitários com alta-rotação (13), esta apresentou perda de cálcio igual entre o 1º e 3º dias, e nos 1º e 3º dias foram observados menores valores médios em comparação ao 7º dia, mostrando uma maior perda mineral no final do período experimental, sendo o grupo com maior perda de cálcio no 7º dia, isto pode ser explicado pela suscetibilidade da resina composta à degradação com o passar do tempo, e que mesmo sendo um estudo laboratorial, com suas limitações, devemos

considerar uma situação de forte desafio ácido, simulando uma condição de alta atividade de cárie, e desafio do material.

No início o material apresentou bom comportamento, porém com o passar do tempo, pode ter ocorrido uma degradação da interface adesiva, levando a formação de fenda, e acelerando a perda mineral, como descrito por Domingues (2003), Featherstone (2000), Geraldo-Martins (2007), Kidd (1978), Kidd, Toffenetti e Mjör (1998), Pereira; Inogoshi; Tagami (1998), Rodrigues (2003) e Serra (1995).

Também deve ser considerada a ausência de liberação de flúor do sistema adesivo e RC utilizados no presente estudo (Adper Single Bond 2 e Filtek Z 350), sendo o material restaurador que apresenta, frente a um desafio cariogênico, a maior formação de lesões de cárie nos tecidos adjacentes, e ausência de um efeito protetor frente a perda mineral, como relatado nos estudos de Dionysopoulus et al. (1998), Dionysopoulos et al. (2003), Gonzalez, Yap e Hsu (2004), Hara et al. (2005), Kidd (1978), Kielbassa, Muller e Garcia-Godoy (1999), Kotsanos (2001), Lobo et al. (2005), Okuda et al. (2003), Pereira, Inokoshi e Tagami, (1998), Pereira et al. (1998), Peris et al. (2007), Rodrigues (2003), Rodrigues et al. (2005), Salar et al. (2007), Serra (1995), Serra e Cury (1992) e Takahashi, Emilson e Birkhed (1993).

Como observado no estudo de Peris et al. (2007), que mesmo nos materiais resinosos (sistemas adesivos ou resinas compostas) que apresentam liberação de flúor, não são capazes de inibir a formação de lesões de cárie secundárias, apresentando valores de perda mineral e formação de lesão similar aos materiais resinosos que não contenham flúor, e maior perda

mineral no esmalte que os CIV convencionais e CIVRM, como também descrito nos estudos de Chan et al. (2006), Dionysopoulus et al. (1998), Hara et al. (2002), Hara et al. (2005), Okuda et al. (2003), Pereira, Inokoshi e Tagami (1998), Rodrigues (2003), Rodrigues et al. (2005) e Serra (1995).

Quanto à utilização dos lasers nos tecidos mineralizados dentais, estudos de Hossain et al. (2002b) e Yu et al. (2000), com laser de Er,Cr:YSGG, e Cecchini (2001) e Hossain et al. (2003), com laser de Er:YAG, mostraram alterações ultra estruturais, de caráter morfológico e composicional, com aumento das concentrações de cálcio e fósforo após irradiação e efeitos térmicos do laser. Tais alterações poderiam afetar na interação dos diferentes materiais no substrato dental, ou potencializar a ação anticariogênica destes ou mesmo compensar no caso de falha do material restaurador.

Como observado nos grupos de preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG com 3W e restaurados com CIV, CIVRM e RC (grupos 21, 22 e 23 respectivamente), estes apresentaram valores médios da perda de cálcio sem diferenças significantes no decorrer do tempo experimental (1, 3 e 7 dias), mostrando fortes evidências dos efeitos da radiação laser, em promover efetiva ação anticariogênica, reduzindo a solubilidade do esmalte e a formação de lesões de cárie. Além disso, devem-se destacar os menores valores médios da perda de cálcio no decorrer do tempo nestes grupos (gráfico da figura 5.1).

O grupo de preparo cavitário com laser de Er,Cr:YSGG com 4W e restaurado com CIV (grupo 31) apresentou menor valor médio da perda de

cálcio no 1º dia em comparação ao 3º dia, não foi observada diferenças entre o 1º e 7º dias, e o 3º dia apresentou maior valor que o 7º dia. Tal comportamento mostra um aumento da desmineralização no decorrer do tempo e uma queda no final do experimento (curva ascende-descendente), como observado no gráfico da figura 5.1. Este perfil foi semelhante com os grupos de preparos com alta rotação e CIV (grupo 11), e laser de Er,Cr:YSGG com 5W e CIV (grupo 41). Pode-se levantar a hipótese, que no presente estudo mesmo utilizando um CIV de alta-viscosidade (Ketac Molar Easy Mix), com mudanças na sua composição e aumento das propriedades mecânicas (BUSSADORI et al., 2003; BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; RAGGIO, 2004), frente ao forte desafio ácido (pH 4,8), houve uma maior degradação do material nas primeiras 24 horas, período crítico do material devido as reações de presa inicial (4 a 8 min) e final (24 a 48 horas) e uma maior liberação de flúor e “ação protetora” frente a desmineralização do esmalte, levando a menor perda de cálcio em 24 horas em comparação ao 3º dia.

Com o passar do tempo, a reação de presa pode continuar, por dias, semanas ou até meses, havendo sua estabilização, e conseqüente aumento nas propriedades mecânicas e redução na liberação de flúor (BUSSADORI; IMPARATO; GUEDES-PINTO, 2000; NAVARRO; PASCOTTO, 1998; RAGGIO, 2004; ROTHWELL; ANSTICE; PEARSON, 1998), como pode ter ocorrido por volta do 3º dia, levando a maior perda de cálcio no esmalte neste período. Finalmente em 7 dias houve uma redução da perda de cálcio, possivelmente a custa de recarga e liberação de flúor pelo material, a partir do íon presente na

solução entre o 3º e 7º dias, ou mesmo pela ação e precipitação de fluoreto de cálcio formado na superfície do esmalte adjacente à restauração. Assim pode-se destacar que o material restaurador apresentou forte papel na perda mineral do esmalte, aumentando ou reduzindo, independente da técnica de preparo cavitário.

Em relação aos resultados similares de perda mineral entre os grupos laser de Er,Cr:YSGG, utilizando as potências de 4W e 5W (grupos 31 e 41), pode-se levantar a hipótese do comprimento de onda laser, mesmo sendo utilizado com diferentes radiâncias ($70,74 \text{ J/cm}^2$ e $88,43 \text{ J/cm}^2$), promover efeitos semelhantes no substrato dental a partir do momento que atinja o limiar, uma vez que a partir de determinada radiância e temperatura, ocorrem os efeitos foto mecânicos, acima do limiar de ablação (18 J/cm^2 por volta de 800°C para o laser de Er,Cr:YSGG e 7 J/cm^2 por volta de 300°C para o laser de Er:YAG) ou foto térmicos, acima do limiar de fusão dos componentes minerais da hidroxiapatita carbonatada ($1100\text{-}1200^\circ\text{C}$) como descrito por Fried et al. (1996).

Outra possibilidade é da radiação laser, através dos efeitos foto térmicos ou foto mecânicos, promover alterações morfológicas e/ou químicas, ou mesmo degradação nos constituintes orgânicos e minerais, com redução da quantidade de água, aumento da resistência ácida, mudança nas concentrações de cálcio e fósforo, e alteração na permeabilidade que interfiram diretamente no mecanismo de adesão com a resina composta e o cimento de ionômero de vidro, e a partir daí, na

integridade e solubilidade final da interface esmalte-restauração nos diferentes períodos.

Apesar da importância da análise inferencial dos grupos em cada Tempo experimental, esta poderia dar um resultado falso, pois mostra um perfil localizado de cada grupo naquele tempo, devendo destacar a grande importância, para as conclusões do presente estudo, das comparações, de forma descritiva e inferencial, considerando o **Tempo total entre os diferentes Grupos (Técnica e Material)**.

Pela análise descritiva do gráfico Boxplot da *perda de cálcio no Tempo total* (figura 5.2) pode-se constatar que *todos os grupos apresentaram perda de cálcio*. Os resultados dos diferentes grupos no tempo total podem ser divididos em:

Baixos valores médios totais da perda de cálcio, que apresentaram ganho (valores negativos) e reduzida perda de cálcio (estando com valores muito próximos ou na linha do valor zero) (linha vermelha do gráfico da figura 5.2), como nos grupos 21, 22 e 12 (2,07; 2,64 e 6,42 ppm/mm² respectivamente), que não apresentam diferenças estatisticamente significante entre si, e são os menores valores médios totais.

Intermediários valores médios totais da perda de cálcio, que apresentam valores acima do zero como nos grupos 42, 11, 33, 31, 32 (10,02; 10,89; 7,84; 11,17 e 11,54 ppm/mm² respectivamente), que não apresentam diferenças estatisticamente significante entre si, e são os valores médios totais intermediários.

Altos valores médios totais da perda de cálcio, que apresentam valores muito acima do zero como nos grupos 23, 43, 41 e 13 (13,47; 15,42; 17,74 e 21,14 ppm/mm² respectivamente), que não apresentam diferenças estatisticamente significante entre si, e são os valores médios totais mais elevados no presente estudo.

Os resultados inferenciais mostraram significante melhor desempenho, portanto *menor perda de cálcio* dos grupos de preparo cavitário com laser de Er,Cr:YSGG com 3W (53,05 J/cm²) e restaurados com CIV (grupo 21) ou CIVRM (grupo 22), e do grupo de preparo com alta-rotação restaurado com CIVRM (grupo 12), estes grupos apresentaram *valores médios totais da perda de cálcio inferiores ou similares aos demais grupos avaliados*, como pode ser observado no gráfico Boxplot da figura 5.2 e na tabela 5.5.

Tais resultados mostram a efetividade do laser de Er,Cr:YSGG, na redução da perda de cálcio, no esmalte adjacente a cavidades preparadas com as menores radiâncias (53,05 J/cm²), em associação com materiais ionoméricos, após desafio ácido. Fica evidente o *efeito sinérgico* do laser com os materiais que apresentam liberação de flúor, e a *fundamental* importância de se conhecer as alterações que os lasers em alta intensidade, com diferentes protocolos de irradiação, promovem na estrutura dental e a interação com os diferentes materiais restauradores adesivos.

Tais resultados favoráveis para a ação preventiva dos lasers com comprimento de onda por volta de 3 µm, também foram demonstrados no estudo de Bevilacqua (2002) que utilizando o laser de Er:YAG (2940nm),

mostrou que a utilização de radiâncias mais elevadas, associadas a aplicação do flúor, promoveram menor perda de cálcio e fósforo que as amostras tratadas somente com flúor.

O estudo de Delbem et al. (2003) constatou que a irradiação do laser de Er:YAG influenciou na deposição de fluoreto de cálcio no esmalte, resultando em ação anti-cariogênica superficial, porém não em profundidade; Apel et al. (2004) e Apel et al. (2005), realizaram estudo *in situ*, mostrando que parâmetros maiores seriam os mais efetivos no aumento da resistência ácida do esmalte, e prevenção da formação de lesões de cárie, porém, levam a grandes alterações na superfície do esmalte, com criação de irregularidades e aumento da rugosidade, que favoreceriam a maior adesão da placa bacteriana, e conseqüentemente aumento da desmineralização superficial, e trincas/fendas que funcionariam como poros para penetração dos ácidos levando a desmineralização com o passar do tempo.

No estudo de Tashima (2006) tornou-se evidente a forte interação do laser de Er:YAG com o íon flúor, mostrando na avaliação pela microscopia de luz polarizada que irradiação com laser associada ao flúor impediu a progressão das lesões de cárie em 18% ou reduziu o corpo da lesão em 23%. Como observado no estudo de Ana (2007) que as superfícies irradiadas pelo laser de Er,Cr:YSGG apresentaram maior formação e retenção após aplicação de flúor fosfato acidulado.

Por outro lado, estudo de Apel et al. (2002b) mostrou que o tratamento do esmalte com flúor e posterior irradiação com lasers de Er:YAG ou

Er,Cr:YSGG levaram a perda de cálcio semelhante ao tratamento somente com o flúor, portanto o laser nos parâmetros de irradiação avaliados não apresentaram potencial para o aumento da resistência ácida do esmalte. Como observado no estudo de Freitas (2005), com resultados similares na porcentagem de volume mineral perdido entre as amostras irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG ou tratadas com dentifrício fluoretado.

O estudo de Apel, Schäfer e Gutknecht (2003) mostrou maior extensão das lesões formadas nas margens de cavidades preparadas com os lasers de Er:YAG (20Hz, 260mJ) e Er,Cr:YSGG (20Hz, 305 mJ), porém foram utilizados parâmetros muito superiores ao do presente estudo, podendo levantar a hipótese de ter ocorrido maior aumento de temperatura e danos térmicos ao substrato dental.

Estudos de Apel et al. (2004), Bevilacqua (2002), Castellan et al. (2007), Ceballos et al. (2000), Cecchini (2001), Delbem et al. (2003), Domingues (2003), Fried et al. (1996), Hossain et al. (2000), Kayano et al. (1991), Nara et al. (1990) e Tashima (2006) com laser de Er:YAG, e estudos de Apel et al. (2004) e Hossain et al. (2001a) com laser de Er,Cr:YSGG mostraram resultados favoráveis quanto à redução da desmineralização e formação de lesões de cárie.

Por outro lado, estudos de Ana (2007), Apel et al. (2002b), Apel et al. (2005) e Apel, Schäfer e Gutknecht (2003) com laser de Er:YAG e estudos de Apel et al. (2002a), Apel et al. (2002b), Apel et al. (2005), Apel, Schäfer e Gutknecht (2003) e Freitas (2005) com laser Er,Cr:YSGG mostraram que estes

comprimentos de onda laser, nos parâmetros de irradiação avaliados, não apresentam potencial para o aumento da resistência ácida do esmalte.

A análise inferencial mostra que o grupo de preparo cavitário com laser de Er,Cr:YSGG com 3W e restaurado com resina composta (grupo 23) apresentou valor médio total da perda de cálcio estatisticamente *superior* em relação aos grupos 21 (CIV) e 22 (CIVRM), e *similar* aos grupos 12, 43, 41 e 13, tendo um comportamento no limite entre os grupos com valores altos e valores intermediários da perda de cálcio.

A comparação dos valores da perda de cálcio do grupo 23 reforça a importância da interação entre a Técnica e o Material no efeito anticariogênico, pois foi realizado o preparo com laser de Er,Cr:YSGG com 3W, como nos grupos 21 e 22 que apresentou estatisticamente os menores valores de perda mineral, porém restaurado com a RC. Assim, não basta ter uma Técnica de preparo cavitário efetiva, mas o resultado final da interação desta com o Material na redução da desmineralização.

Nesta interação do material restaurador com o substrato irradiado pelo laser de Er,Cr:YSGG, deve-se observar que o laser promove uma “ação seletiva” com a superfície dentinária, com maior interação na dentina intertubular, por esta apresentar maior concentração de água, levando a sua maior remoção, criando uma maior diferenciação entre as dentinas peri e inter tubular, com um padrão de protrusão da dentina intertubular, formando “colares de dentina”, como descrito por Geraldo-Martins (2007), Harashima et al. (2005), Hossain et al. (1999), Hossain et al. (2002a, 2002b), Kimura et al. (2001), Lin et al. (1998) e Yu et al. (2000).

Estes efeitos termo mecânicos em maior intensidade na dentina intertubular podem gerar alterações ultra estruturais, com degradação dos componentes orgânicos e colapso da rede de fibrilas colágenas, (BACHMANN et al., 2005; BENAZZATO; STEFANI, 2003; FARMAKIS; KONTAKIOTIS; KOUVELAS, 2001; HSU et al., 2000; YING; CHUAH; HSU, 2004); dificultando ou impedindo a interação e penetração dos monômeros resinosos adesivos e a hibridização do substrato, prejudicando a adesão, podendo levar as falhas de união ou maior microinfiltração e degradação na interface ao longo do tempo (ARANHA et al., 2007; CEBALLOS et al., 2001; CORONA et al., 2003; CORONA et al., 2007b; GERALDO-MARTINS, 2007; HARASHIMA et al., 2005; HOSSAIN et al., 2002b; KIMURA et al., 2001; NAVARRO, 2001).

Em estudo realizado por Farmakis, Kontakiotis e Kouvelas (2001) foi analisado os efeitos do laser de Er,Cr:YSGG (de 3,5 a 6W) na dentina, pela microscopia de luz e uso de corantes marcadores protéicos, sendo observada fortes alterações na estrutura colágena da dentina irradiada remanescente. Utilizando o laser de Er:YAG, Benazzato e Stefani (2003) observaram pela MEV, após irradiação da dentina com laser de Er:YAG, a fusão e desnaturação das fibrilas colágenas na dentina intertubular, e manutenção da sua integridade nas porções iniciais dos túbulos e dentina peritubular.

Os grupos que apresentaram *Intermediários valores médios totais da perda de cálcio*, tiveram cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG com 5W e CIVRM (grupo 43), preparos com alta-rotação e CIV (grupo 11), preparos com laser de Er,Cr:YSGG com 4W e restauradas com RC (grupo 33),

CIV (grupo 31) e CIVRM (grupo 32), sem apresentar diferenças significantes entre eles.

As *maiores médias totais da perda de cálcio*, e maior desmineralização conseqüentemente, foram os grupos com cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG com 5W e restauradas com resina composta (grupo 43) ou cimento de ionômero de vidro (grupo 41) e alta-rotação e RC (grupo 13) como observado na tabela 5.5.

Deve-se destacar que é um resultado interessante, pois mostra um comportamento semelhante na perda de cálcio, no esmalte adjacente à restauração, com dois materiais, CIVRM e RC, com capacidade anti cariogênica distintas e até antagônicas, como observado e descrito por Amaral, Guedes-Pinto e Chevitarese (2005), Hara et al. (2005), Lobo et al. (2005), Rodrigues (2003) e Rodrigues et al. (2005).

Interessante observar que os preparos com **laser de Er,Cr:YSGG com 4W e 5W**, utilizando um mesmo material restaurador, os grupos não apresentaram diferenças significantes, assim, grupos 31 e 41 (CIV), grupos 32 e 42 (CIVRM), grupos 33 e 43 (RC); por outro lado, os grupos com a menor radiância (3W; 53,05 J/cm²) apresentaram menores valores médios da perda de cálcio, em comparação aos grupos com as maiores radiâncias (4W; 70,74J/cm² e 5W; 88,43 J/cm²), independente dos materiais utilizados, assim com o CIV (21 < 31; 21 < 41) e o CIVRM (22 < 32; 22 < 42), porém com a resina composta não foi observada diferenças significantes entre os preparos com laser com 2W e 4W (grupo 23 e 33) ou 2W e 5W (grupos 23 e 43). Tais

resultados reforçam a forte influência e importância do fator interação material com a técnica nos resultados da perda mineral.

Os grupos de **preparos com alta-rotação (AR)** mostraram comportamento muito influenciado pelo material restaurador utilizado, sendo observados, pelo gráfico Boxplot da figura 5.2, grande variabilidade das unidades amostrais nos diferentes grupos (11, 12 e 13).

Pela tabela 5.5 observa-se *alto valor médio total da perda de cálcio para o grupo AR e resina composta* (grupo 13), sendo o grupo com maior valor médio total (21,14 ppm/mm²); observam-se valores intermediários para o *grupo AR e cimento de ionômero de vidro* (grupo 11) (10,89 ppm/mm²); e finalmente o *grupo AR e cimento de ionômero de vidro resino modificado* (grupo 12) (6,42 ppm/mm²), sendo um dos grupos com *baixo valor da média total da perda de cálcio*, apresentando unidades amostrais com ganho (abaixo da linha do zero) e a maioria com reduzida perda de cálcio.

Pode-se inferir a hipótese que na Técnica de preparo cavitário com alta-rotação, frente ao desafio ácido, o CIVRM apresentou uma maior solubilização e degradação, levando a liberação do íon flúor e redução na desmineralização do esmalte, ao passo que o CIV de alta viscosidade, por apresentar maiores propriedades mecânicas, houve uma menor solubilização e degradação, com redução na liberação de flúor e ação anti cariogênica.

Como descrito por Bombonatti (2004), que a ação contínua de cargas mecânicas e agentes químicos (ácidos), no decorrer do tempo, podem levar a degradação da matriz do CIVRM, com ruptura da união

entre as cargas vítreas da porção ionomérica com a matriz resinosa, levando ao destacamento das cargas, trincas, fendas e maior degradação da matriz do material.

A análise inferencial mostrou que nos preparos com alta rotação não foi observada diferença entre os materiais CIV e CIVRM (grupos 11 e 12), e a resina composta (grupo 13) apresentou significante maior perda média de cálcio que os grupos com CIV (grupo 11) e CIVRM (grupo 12) (tabela 5.5),

Tais resultados mostram a ausência de um efeito anti cariogênico das resinas compostas, indo de encontro aos achados dos estudos de Chan et al. (2006); Dionysopoulus et al. (1998), Dionysopoulos et al. (2003), Gonzalez, Yap e Hsu (2004), Hara et al. (2005), Kidd (1978), Kielbassa et al. (1999), Kotsanos (2001), Lobo et al. (2005), Okuda et al. (2003), Pereira, Inokoshi e Tagami, (1998), Pereira et al. (1998), Peris et al. (2007), Rodrigues (2003), Rodrigues et al. (2005), Salar et al. (2007), Serra (1995), Serra e Cury (1992) e Takahashi, Emilson e Birkhed (1993).

Existem dúvidas quanto ao mecanismo de ação dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG quanto a prevenção e/ou paralisação das lesões de cárie, a partir do seus efeitos foto térmicos e/ou foto mecânicos que levam a alterações morfológicas e/ou químicas da estrutura dental irradiada.

São *duas hipóteses* que tentam explicar o mecanismo de ação pelo qual os lasers em alta intensidade poderiam aumentar a resistência ácida do esmalte. Uma delas defende que as *alterações morfológicas (fusão e ressolidificação)*, decorrentes do aumento de temperatura, levariam a alterações cristalográficas na estrutura da hidroxiapatita e aumento do

tamanho dos cristais, ou formação de microespaços, agindo como sítios de retenção de íons minerais (KAWASAKI et al., 2000; MORIOKA; TAGOMORI; OHO, 1991; TAGOMORI; MORIOKA, 1989). Acredita-se que esses microespaços, formados a partir da redução dos compostos orgânicos, água e carbonato, poderiam facilitar a captura íons cálcio, fosfato e flúor liberados através da estrutura do esmalte e da dentina, funcionando como sítios de reprecipitação mineral durante o desafio cariogênico (FEATHERSTONE; FRIED; DUHN, 1998; MORIOKA; TAGOMORI; OHO, 1991; TAGOMORI; MORIOKA, 1989).

O efeito térmico promovido pelos lasers na superfície do esmalte pode levar a alterações morfológicas microscópicas (ultra-estruturais), aumentando a irregularidade que para alguns autores tornaria a superfície mais reativa ao íon flúor e formação de fluoreto de cálcio (CECCHINI et al., 1998; CECCHINI, 2001; DELBEM et al., 2003; FLAITZ et al., 1995; HICKS et al., 2003), como ocorre nas superfícies de lesão de mancha branca que apresentam maior deposição de fluoreto de cálcio que as superfícies hígidas, devido a sua maior porosidade (BRUUN; GIVSKOV, 1991).

Para outros autores, como Ana (2007), Apel et al. (2002b), Apel et al. (2005) e Apel, Schäfer e Gutknecht (2003) as irregularidades superficiais criadas, pela ação foto térmica ou foto mecânica, poderiam favorecer a retenção de biofilme, e a partir daí uma maior desmineralização do esmalte, além das possíveis trincas criadas servirem como “poros” ou “canais” de entrada dos ácidos microbianos e saída dos íons minerais.

Muitos estudos, porém, apontam para as *alterações químicas* que ocorrem na estrutura dental quando irradiada com lasers em alta intensidade (FRIED et al., 1996; FOWLER; KURODA, 1986; HOSSAIN et al., 1999), sendo o principal mecanismo que promove o aumento da resistência ácida do esmalte (ANA, 2007; DELBEM et al., 2003; FEATHERSTONE, 2000; FREITAS, 2005; FRIED et al., 1996).

Os efeitos foto térmicos e termo mecânicos podem levar a redução do conteúdo de carbonato, o aumento da concentração de íons hidroxila, a formação de pirofosfatos e a decomposição de proteínas. Acredita-se que essas alterações são capazes de reduzir a solubilidade do esmalte diante de um desafio ácido (BACHMANN et al., 2005; BACHMANN; ZECELL, 2005; KWON et al., 2005).

As alterações químicas no esmalte dental ocorrem gradualmente e estão diretamente relacionadas ao aumento de temperatura, sendo que a temperatura superficial do esmalte atingindo entre 100 e 650°C, a principal alteração química que ocorre é a redução dos componentes de carbonato (CO_3) presentes na posição do fosfato, e os íons ácidos de fosfato condensam para formar pirofosfatos; entre 650 e 1.100°C a principal mudança é a ressolidificação causada pela temperatura e o aumento do tamanho do cristais de hidroxiapatita no esmalte, e o pirofosfato reage com a apatita para formar PO_4 junto com a formação de β -TCP; em temperatura superiores a 1.100°C o β -TCP é convertido em α -TCP e quando a temperatura atinge 1.430°C este composto se transforma em um polimorfo de alta temperatura. O tri-cálcio-fosfato α e β (TCP) são potencialmente solúveis em

meio ácido, porém deve-se considerar o esmalte, por ser um retículo cristalino, a interação de todos os seus componentes e fases cristalinas dispostas na estrutura global do tecido (ANA, 2007; APFELBAUM; MAYER; FEATHERSTONE, 1990; BACHMANN et al., 2005; BACHMANN; ZECELL, 2005; FEATHERSTONE; FRIED; BITTEN, 1996; FEATHERSTONE; FRIED; DUHN, 1998; FREITAS, 2005, FOWLER; KURODA, 1986, LIU; LIU; STEPHEN, 2006).

Existem muitos questionamentos quanto aos parâmetros e protocolos de irradiação do esmalte para prevenção e/ou paralisação das lesões de cárie, bem como do seu mecanismo de ação e interação com produtos fluoretados, e diferentes materiais restauradores, em relação à perda mineral da estrutura dental, paralisação e formação de lesões de cárie.

No presente estudo foi avaliada a perda do íon cálcio nas soluções desmineralizadoras, outros estudos deverão ser realizados avaliando as concentrações do íon flúor nas soluções, bem como a extensão das lesões de cárie formadas no esmalte adjacente às restaurações, pela microscopia de luz polarizada, a porcentagem de volume mineral perdido através da microdureza do esmalte, visando avaliar e correlacionar os resultados do presente estudo com as possíveis mudanças na estrutura dental.

Os resultados deste estudo *in vitro* sugerem que a realização de preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG (53,05J/cm²) restaurados com CIV e CIVRM ou alta-rotação e CIVRM foram efetivos na redução da perda mineral e no aumento da resistência ácida do esmalte adjacente as restaurações após desafio ácido, com potencial em prevenir lesões de cárie secundária.

Nos últimos anos, a prevalência da doença cárie apresentou uma acentuada redução na maioria dos países, devido ao *uso de racional de fluoretos*, em baixa concentração e alta freqüência como nos dentifrícios fluoretados, e a prática de medidas de orientação, educação e motivação que levaram a *mudança de hábitos dos pacientes*, quanto a higiene bucal e dieta como descrito por Bönecker e Sheiham (2004), Clarkson e Rafter (2001), Mendes (2005), Mickenautsch et al. (2006) e Zero (1999).

A meta de uma Odontologia que vise a “promoção de saúde”, desmistificando paradigmas e buscando novas atitudes, é não permitir que o paciente entre em um *ciclo restaurador repetitivo*, portanto muito mais que à realização de procedimentos restauradores, atue no controle da doença cárie, através do controle dos seus fatores etiológicos e de risco comuns.

Portanto deve-se ter como meta principal o “tratamento da doença cárie” ao invés do “tratamento dos seus sinais clínicos”, através de procedimentos restauradores, sem pensar nas causas reais da doença cárie.

Apesar da relevância do presente estudo, e de outros que avaliaram a perda mineral e formação de lesões de cárie secundárias, utilizando diferentes técnicas, de remoção do tecido cariado e preparos cavitários, e diferentes materiais restauradores, liberadores ou não de flúor, o procedimento restaurador, mesmo seguindo os atuais conceitos de “mínima intervenção”, visa restabelecer forma anatômica, função mastigatória, oclusal, fonética e estética, portanto restabelecer a integridade da estrutura dental perdida pela evolução da doença cárie.

As evidências científicas mostram que somente a adoção de práticas de promoção de saúde leva ao controle da doença cárie, assim independente da Técnica de preparo cavitário ou o Material restaurador utilizado, o mais importante é o controle ou modificação dos fatores etiológicos determinantes para a instalação e progressão da doença cárie, tendo em vista abordagens de “mínima intervenção” para prevenção, controle e paralisação da doença cárie e seus sinais clínicos, levando a redução da incidência e severidade da doença.

7 CONCLUSÕES

Dentro dos limites deste estudo *in vitro*, pode-se concluir que:

Nenhuma técnica ou material restaurador impediu a desmineralização do esmalte.

As restaurações de resina composta apresentaram maior perda mineral que as de CIV e CIVRM.

Os preparos com laser de Er,Cr:YSGG com menor radiância ($53,05 \text{ J/cm}^2$) apresentaram significante menor desmineralização que as maiores radiâncias ($70,74$ e $88,43 \text{ J/cm}^2$).

A realização de preparos cavitários com laser de Er,Cr:YSGG ($53,05 \text{ J/cm}^2$) restaurados com materiais ionoméricos, ou alta-rotação com cimento de ionômero de vidro resino-modificado foram efetivos na redução da perda mineral e no aumento da resistência ácida do esmalte adjacente as restaurações após desafio ácido, tendo um potencial em prevenir lesões de cárie secundária.

REFERÊNCIAS¹

Amaral MT, Guedes-Pinto AC, Chevitarese O. Effects of a glass-ionomer cement on the remineralization of occlusal caries – an in situ study Efeito de um cimento de ionômero de vidro sobre a remineralização de cárie na superfície oclusal – estudo in situ. *Braz Oral Res* 2005;20(2):91-6.

Ana PA. Estudo in vitro da resistência à desmineralização e da retenção de flúor em esmalte dental irradiado com *laser* de Er,Cr: YSGG [Tese de Doutorado]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2007.

Apel C, Birker L, Meister J, Weiss C, Gutknecht N. The caries-preventive potential of subablative Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation in an intraoral model: a pilot study. *Photomed Laser Surg* 2004;22(4):312-7.

Apel C, Meister J, Götz H, Duschner H, Gutknecht N. Structural changes in human dental enamel after subablative erbium laser irradiation and its potential use for caries prevention. *Caries Res* 2005;39:65-70.

Apel C, Meister J, Ioana RS, Franzen R, Hering P, Gutknecht N. The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in dental enamel. *Lasers Med Sci* 2002a;17:246-52.

Apel C, Meister J, Schmitt N, Gräber HG, Gutknecht N. Calcium solubility of dental enamel following sub-ablative Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation *in vitro*. *Laser Surg Med* 2002b;30:337-41.

Apel C, Schäfer C, Gutknecht N. Demineralization of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel cavities in vitro. *Caries Res* 2003;37:34-7.

Apfelbaum F, Mayer I, Featherstone JBD. The role of HPO_4^{2-} and CO_3^{2-} ions in the transformation of synthetic apatites to $\beta\text{-Ca}_5(\text{PO}_4)_2$. *J Inorg Biochem* 1990;38:1-8.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE

Aranha AC, Eduardo CP, Gutknecht N, Marques MM, Ramalho KM, Apel C. Analysis of the interfacial micromorphology of adhesive systems in cavities prepared with Er,Cr:YSGG, Er:YAG laser and bur. *Microsc Res Tech* 2007;70:745-51.

Arends J, Ten Cate JM. Tooth enamel remineralization. *J Crystal Growth* 1981;53(2):135-47.

Argenta RMO, Tabchoury COM, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:241-6.

Bachmann L, Diebolder R, Hibst R, Zezell DM. Changes in chemical composition and collagen of dentine tissue after erbium laser irradiation. *Spectrochimica Acta* 2005;Part A61:2634-39.

Bachmann L, Zezell DM. Estrutura e composição do esmalte e dentina. São Paulo: Livraria da Física; 2005.

Benazzato P, Stefani A. The effect of Er:YAG laser treatment on dentin collagen: an SEM investigation. *J Oral Laser Applications* 2003;3:79-81.

Benelli EM, Serra MC, Rodrigues Jr AL, Cury JA. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. *Caries Res* 1993;27(4):280-4.

Bertacchini SM, Abate PF, Blank A, Baglieto MF, Macchi RL. Solubility and fluoride release in ionomers and compomers. *Quintessence Int* 1999;30(3):193-7.

Bevilacqua FM. Estudo in vitro da incorporação de flúor e resistência ácida do esmalte dental irradiado com laser de Er:YAG: análise de espectrometria de absorção atômica e espectrofotometria [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Boj J, Galofre N, Espana A, Espasa E. Pain perception in pediatric patients undergoing laser treatments. J Oral Laser Applications 2005;5:85-9.

Bombonatti JFG. Liberação de flúor e potencial anticariogênico de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina e diferentes proporções pó/líquido, comparativamente a selantes [Tese de Doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru da USP; 2004.

Bönecker M; Sheiham A. Promovendo saúde bucal na infância e adolescência: conhecimentos e práticas. São Paulo: Ed. Santos; 2004. p. 195.

Borsatto MC, Corona SA, Palma-Dibb RG, Ramos RP, Pécora JD. Microleakage of a resin sealant after acid-etching, Er:YAG laser irradiation and air-abrasion of pits and fissures. J Clin Laser Med Surg 2001;19(2):83-7.

Borsatto MC, Corona SA, Ramos RP, Liporaci JL, Pécora JD et al. Microleakage of sealant/enamel interface of primary teeth:effect of Er:YAG laser ablation of pits and fissures. J Dent Child 2004;71(2):143-7.

Borsatto MC, Corona SA, Chinelatti MA, Ramos RP, de Sá Rocha RA, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Comparison of marginal microleakage of flowable composite restorations in primary molars prepared by high-speed carbide bur, Er:YAG laser and air abrasion. J Dent Child 2006;73(2):122-6.

Britto CR. Avaliação *in vitro* da Dureza Knoop do cimento de ionômero de vidro utilizando diferentes materiais de proteção superficial. [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Centro de Pós Graduação CPO São Leopoldo Mandic; 2006.

Bruun C, Givskov H. Formation of CaF₂ on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride applications in vitro. Caries Res 1991;25:96-100.

Burkes Jr EJ, Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M. Wet and dry enamel ablation by Er:YAG laser. J Prosthet Dent 1992;67(6):847-51.

Bussab WO, Morettin PA. Estatística Básica. 5ed. São Paulo: Saraiva; 2006.

Bussadori SK, Imparato J CP, Guedes-Pinto AC. Dentística Odontopediátrica. São Paulo: Santos; 2000. p. 169.

Bussadori SK, Ribeiro PC, Santos EM, Raggio DP, Guedes-Pinto AC. Avaliação da reação de presa dos cimentos de ionômero de vidro. J Bras Odontopediatr Odontol Bebê 2003;6(33):405-9.

Carvalho RM, Tay FR, Giannini M, Pashley DH. Effects of pre- and post-bonding hydration on bond strength to dentin. J Adhes Dent 2004a;6:13-7.

Carvalho RM, Carrilho MRO, Pereira LCG, Garcia FCP, Marquesini Jr L, Silva SM et al. Sistemas adesivos: fundamentos para aplicação clínica. Biodonto 2004b;2:1-76.

Carvalho A, Cury JA. Fluoride release from some dental materials in different solutions. Oper Dent 1999;24:14-9.

Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RMG, Mendes FM, Eduardo CP, Freitas PM. In vitro evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. Photomed Laser Surg 2007;25(1):85-90.

Ceballos L, Toledano M, Osorio R, García-Godoy F, Flaitz C, Hicks J. Er:YAG laser pretreatment effect on in vitro secondary caries formation around composite restorations. Am J Dent 2001;14(1):46-9.

Cecchini RCM. Estudo *in vitro* do efeito da radiação do laser de Er:YAG em esmalte dental: análise de espectrometria de emissão atômica e microscopia eletrônica de varredura [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2001.

Cecchini RCM, Pelino JE, Zezel DM, Mello JB, Cardoso AO, Salvador VL, et al. Acid resistance of enamel treated with Nd:YAG laser associated with fluoride and exposed to S mutans culture media. In: 6th International Congress on Lasers in Dentistry; 1998; Maui p.53-7.

Chan WD, Yang L, Wan W, Rizkalla AS. Fluoride release from dental cements and composites: a mechanistic study. Dental Materials 2006;22:366-73.

Chinelatti MA, Ramos RP, Chimello DT, Borsatto MC, Pécora JD, Palma-Dibb. Influence of the use of Er:YAG laser for cavity preparation and surface treatment in microleakage of resin-modified glass ionomer restorations. *Oper Dent* 2004;29(4):430-6.

Clarkson BH. Introduction to cariology. *Dent Clin North Am* 1999;43(4):569-78.

Clarkson BH, Rafter ME. Emerging methods used in the prevention and repair of carious tissues. *J Dent Educ* 2001;65:1114-20.

Corona SAM, Menezes M, Borsatto MC, Chimello DT, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Influence of Er:YAG laser on tensile bond strength of resin-modified glass ionomer cements to dentin. *J Oral Laser Applications* 2003;3:21-25.

Corona SAM, Souza AE, Chinelatti MA, Borsatto MC, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Effect of energy and pulse repetition rate of Er:YAG laser on dentin ablation ability and morphological analysis of laser-irradiated substrate. *Photomed Laser Surg* 2007a;25(1):26-33.

Corona SAM, Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Pécora JD, Borsatto MC, Palma-Dibb RG. Influence of energy and pulse repetition rate of Er:YAG laser on enamel ablation ability and morphological analysis of laser-irradiated surface. *J Biomed Mater Res* 2007b [Epub ahead of print]

Cozean C, Arcoria CJ, Pelagalli J, Powell GL. Dentistry for the 21st century? *J Am Dent Assoc* 1997;128(8):1080-7.

Cury JA, Francisco SB, Simoes GS, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization *in situ*. *Caries Res* 2003;37:194-9.

Delbem ACB, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. *Amer J Dent* 2002;15:169-72.

Delbem ACB, Cury JA, Nakassima CK, Gouveia VG, Theodoro LH. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ formation and its anti-cariogenic action on human enamel: an *in vitro* study. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21(4):197-201.

Den Besten PK, White JM, Pelino JE, Lee K, Parkins FA. Randomized prospective parallel controlled study of safety and effectiveness of Er:YAG laser use in children for caries removal. *Proc SPIE* 2000;3910:171-4.

Dijkman, GE, de Vries J, Lodding A, Arends J. Long term fluoride release of visible light activated composites in vitro: a correlation with in situ remineralization data. *Caries Res* 1993;27(2):117-23.

Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogiannis Y, Konstantinidis A. Artificial caries formation around fluoride-releasing restorations in roots. *J Oral Rehabil* 1998;25:814-820

Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia E, Tolidis K. Inhibition of demineralization in vitro around fluoride releasing materials. *J Oral Rehabil* 2003;30:1216-22.

Domingues LA. Avaliação de lesões de cárie artificiais às margens de preparos cavitários realizados com laser de Er:YAG [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Ekworapoj P, Sidhu S, McCabe JF. Effect of surface conditioning on adhesion of glass ionomer cement to Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin. *Photomed Laser Surg* 2007;25(2):118-23.

Elderton RJ Ciclo restaurador repetitivo. In: Kriger L. Promoção de saúde bucal. São Paulo: Artes Médicas; 1999. p. 207-11.

Ellwood R, Fejerskov O. Uso clínico do flúor. In: Fejerskov O, Kidd E. Cárie dentária. A doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Santos; 2005. p 189-219.

Eversole LR, Rizioi I. Preliminary investigations on the utility of an erbium,chromium YSGG laser. *CDA* 1995;23:41-7.

Eversole LR, Rizioi I, Kimmel AI. Pulpal response to cavity preparation by erbium, chromium:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc* 1997;128:1099-1106.

Farmakis ET, Kontakiotis E, Kouvelas N. Effect of Er,Cr:YSGG laser on human dentin collagen. A preliminary study. In: 1th Congress of European Society for Oral Laser Applications-ESOLA, 2001; Viena. p. 13.

Featherstone JDB. Modeling the caries – inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996;12:194-7.

Featherstone JDB. Prevention and reversal of dental caries? Role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999;27:31-40.

Featherstone JDB. Caries detection and prevention with laser energy. *Dent Clin North Am* 2000;44:955-69.

Featherstone JDB, Barrett-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz Z, Seka W. CO₂ laser inhibition of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res* 1998;77(6):1397-403.

Featherstone JDB, Fried D. Fundamental interactions of lasers with dental hard tissues. *Med Laser Appl* 2001;16:181-94.

Featherstone JDB, Fried D, Bitten ER. Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel. *Proc SPIE* 1996;2672:112-6.

Featherstone JDB, Duncan JF, Cutress TW. The mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during *in vitro* caries simulation on human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 1979;24:101-12.

Featherstone JDB, Fried D, Duhn C. Surface dissolution kinetics of dental hard tissue irradiated over a fluence range of 1-8 J/cm². *Proc SPIE* 1998;3248:146-51.

Featherstone JDB, Holmen L, Thylstrup A, Fredebo L, Shariati M. Chemical and histological changes during the development of artificial caries. *Caries Res* 1985;19:1-10.

Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries- Evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004;83(Spec issue C):C39-42.

Fejerskov O, Kidd E. Cárie dentária. A doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Ed. Santos; 2005.

Flaitz CM, Hicks MJ, Westerman GH, Berg JH, Blankenau RJ, Powell GL. Argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment in caries-like lesion formation in enamel: an *in vitro* study. *Pediatr Dent* 1995;17(1):31-5.

Forsten L. Short and long term fluoride release from glass ionomers and other fluoride containing filling materials in vitro. *Scand J Dent Res* 1990; 98(2):179-85.

Forsten L. Fluoride release and uptake by glass ionomers. *Scand J Dent Res, Copenhagen* 1991;99(3):241-5.

Fowler BO, Kuroda S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif Tissue Int* 1986; 38:197-208.

Freitas PM. Estudo *in vitro* do efeito da irradiação com o Laser de Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

Freitas PM, Navarro RS, Barros JA, Eduardo CP. The Use of Er:YAG Laser For Cavity Preparation: An SEM Evaluation. *Microsc Res Tech* 2007;70(9):803-8.

Frencken JE, Holmgren CJ. Atraumatic restorative treatment (ART) for dental caries. Nijmegen: STI Book; 1999.

Frencken JE, van't Hof MA, van Amerongen WE, Holmgren CJ. Effectiveness of single surface ART restorations in permanent dentition: a meta-analysis. *J Dent Res* 2004;83(2):120-3.

Fried D, Featherstone JDB, Visuri SR, Seka W, Walsh JT. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation. *Proc SPIE* 1996;2672:73-8.

Fried D, Ragadio J, Champion A. Residual heat deposition in dental enamel during IR laser ablation at 2.79, 2.94, 9.6 and 10.9µm. *Lasers Surg Med* 2001;29:221-9.

Gao W, Smales RJ, Yip H K. Demineralization and remineralization of dentin caries, and the role of glass-ionomer cements. *Int Dent J* 2000;50(1):51-6.

Geraldo-Martins VR. Análise do selamento marginal de restaurações realizadas após remoção de cárie radicular com o laser de Er,Cr:YSGG [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

Geraldo-Martins VR, Tanji EY, Wetter NU, Nogueira RD, Eduardo CP. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser: an *in vitro* study. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):182-6.

Glasspoole EA, Erickson RL. In vitro caries inhibition effects of fluoride releasing Materials. *J Dent Res* 1993;73(Spec issue):284.

Gonzalez EH, Yap AUJ, Hsu SCY. Demineralization inhibition of direct tooth-colored restorative materials. *Operative Dentistry* 2004;29(5):578-85.

Gutknecht N, Eduardo CP. A odontologia e o laser: atuação do laser na especialidade odontológica. Trad. de Hildegard T. Buckup. São Paulo: Quintessence; 2004.

Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc* 2000;131:777-85.

Hara AT, Turssi CP, Serra MC, Nogueira MCS. Extent of the cariostatic effect on root dentin provided by fluoride-containing restorative materials. *Oper Dent* 2002;27(5):285-95.

Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. *Eur J Oral Sci* 2005;113:245-50.

Harashima T, Kinoshita JI, Kimura Y, Brugnara Jr A, Zanin F, Pecora JD et al. Morphological comparative study on ablation of dental hard tissues at cavity preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers. *Photomed Laser Surg* 2005;23(1):52-55.

Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med* 1989;9(4):338-44.

Hicks J, Garcia-Godoy F, Donly K, Flaitz C. Fluoride-releasing restorative materials and secondary caries. *CDA* 2003;31(3):229-45.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. *J Clin Laser Med Surg* 1999;17(4):155-9.

Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Ito M, Matsumoto K. Caries – preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J Clin Laser Med Surg* 2000;18(2):61-5.

Hossain M, Kimura Y, Nakamura Y, Yamada Y, Kinoshita J, Matsumoto K. A study on acquired acid resistance of enamel and dentin irradiated by Er,Cr:YSGG laser. *J Clin Laser Med Surg* 2001a;19(3):159-63.

Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Kawanaka T, Matsumoto K. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J Clin Laser Med Surg* 2001b;19:105-8.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Compositional and structural changes of human dentin following caries removal by Er,Cr:YSGG laser irradiation in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2002a;26(4):377-82.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Microleakage of composite resin restoration in cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation and etched bur cavities in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2002b;26(3):263-8.

Hossain M, Nakamura Y, Murakami Y, Yamada Y, Matsumoto K. A comparative study of compositional changes and knoop measurement of the cavity floor prepared by Er:YAG laser irradiation and mechanical bur cavity. *J Clin Laser Med Surg* 2003;22(1):29-33.

Hsu CYS, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Laser-matrix-fluoride effects on enamel demineralization. *J Dent Res* 2001;80(9):1797-801.

Imparato JCP, Rocha R, Raggio D. Realidades e perspectivas na odontopediatria. In: Cardoso RJA, Machado MEL. *Odontologia conhecimento e arte*. São Paulo: Artes Médicas; 2003. p. 3-19.

Imparato JCP. ART- Tratamento Restaurador Atraumático- Técnicas de mínima intervenção para o tratamento da doença cárie, Ed. Maio: Curitiba; 2005.

Issa AI, Preston KP, Preston AJ, Toumba KJ, Duggal MS. A study investigation the formation of artificial sub-surface enamel caries-like lesions in deciduous and permanent teeth in the presence and absence of fluoride. *Arch Oral Biol* 2003;48:567-71.

Itthagarun A, Wei SHY. The effect of different commercial dentifrices on enamel lesion progression: an *in vitro* ph-cycling study. *Int Dent J* 2000;50:21-8.

Kalf-Scholte SM, van Amerongen WE, Smith AJ, van Haastrecht HJ. Atraumatic restorative treatment (ART): a three-year clinical study in Malawi-comparison of conventional amalgam and ART restorations. *J Public Health Dent* 2003;63(2):99-103.

Katchburian E, Arana V. *Histologia e embriologia oral*. São Paulo: Panamericana; 1999.

Kato IT. Estudo *in vitro* dos efeitos promovidos pelo Laser de Diodo em 960 nm no esmalte dental humano: análise de temperatura, análise morfológica e avaliação da resistência à desmineralização [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2004.

Kayano T, Ochiai S, Kiyono K, Yamamoto H, Nakalima S, Mochizuki T. Effect of Er:YAG laser irradiation on human extracted teeth. *J Clin Laser Med Surg* 1991;9:147-50.

Kawasaki K, Tanaka Y, Takagi O. Crystallographic analysis of demineralized human enamel treated by laser-irradiation or remineralization. *Arch Oral Biology* 2000;45:797-804.

Kidd EAM, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004;83 (Spec issue C):C35-C38.

Kidd EAM, Toffenetti F, Mjör IA. Secondary caries. *Int Dent J* 1992;42(3):127-38.

Kidd EAM. Cavity sealing ability of composite and glass-ionomer cement restorations. *Br Dent J* 1978;144(5):139-42.

Kielbassa AM, Müller U, García -Godoy, F. In situ study on the caries-preventive effects of fluoride-releasing materials. *Am J Dent* 1999;12(Special issue):S13-4.

Kimura Y, Yu DG, Kinoshita J, Hossain M, Yokoyama K, Murakami Y. Effects of erbium,chromium:YSGG laser irradiation on root surface:morphological and atomic analytical studies. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19(2):69-72.

Kinoshita J, Kimura Y, Matsumoto K. Comparative study of carious dentin removal by Er,Cr:YSGG laser and Carisolv. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21(5):307-15.

Klein ALL, Rodrigues LKA, Eduardo CP, Santos MN, Cury JA. Caries inhibition around composite restorations by pulsed carbon dioxide laser application. *Eur J Oral Sci* 2005;113:239-44.

Kotsanos N. An intraoral study of caries induced on enamel in contact with fluoride releasing restorative materials. *Caries Res* 2001;35(3):200-4.

Kwon YH, Lee JS, Choi YH, Lee JM, Song KB. Changes of enamel after Er:YAG and CO₂ laser irradiation and fluoride treatment. *Photomed Laser Surg* 2005;23(4):389-94.

Legeros RZ, Calcium phosphates in demineralization/remineralization process. *J Clin Dent* 1999;10:65-73.

Lin S, Caputo AA, Rizioiu I, Eversole LR. Composite resin bond strength to tooth structure treated with an Erbium, chromium:YSGG laser powered hydrokinetic system; *Proc SPIE* 1998;3248:173-80.

Li ZZ, Code JE, De Merwe WPV. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg Med* 1992;12:625-30.

Liu JF, Liu Y, Stephen HCY. Optimal Er:YAG laser energy for preventing enamel demineralization. *J Dent* 2006;34:62-6.

Lobo MM, Gonçalves RB, Ambrosano GMB, Pimenta LAF. Chemical or microbiological models of secondary caries development around different dental restorative materials. Inc. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 74B:2005,725-731.

Matsumoto K, Hossain M, Hossain MMI, Kowano H, Kimura Y. Clinical Assessment of the Er,Cr:YSGG laser application for cavity preparation. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20(1):17-21.

Mello AMD, Mayer MPA, Mello FAZ, Matos AB, Marques MM. Effects of Er:YAG laser on the sealing of glass ionomer cement restorations of bacterial artificial root caries. *Photomed Laser Surg* 2006;24(4):467-73.

Mendes FM. Avaliação da efetividade do aparelho de laser de diodo no monitoramento da remineralização in vitro de lesões incipientes de cárie em dentes decíduos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Mendes FM. Avaliação do uso de corantes fluorescentes associados ao Diagnodent para detecção de perda mineral decorrente da cárie dentária [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

Mickenautsch S, Yengopal JV, Bonecker M, Leal SC, Bezerra ACB, Oliveira LB. Minimum Intervention (MI)- A new approach in Dentistry/ Evidence Based Compendium. Johnesburg: Houghton Midentistry; 2006.

Moldes VL. Estudo in vitro da microinfiltração em restaurações de cavidades Classe V preparadas com alta-rotação, lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG e utilizando-se dois sistemas adesivos [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Morioka T, Tagomori S, Nara Y. Application of Nd:YAG laser and fluoride in prevention of dental caries. In: 1th International Congress on Laser in Dentistry, 1989; Tokyo. p. 55-61.

Morioka T, Tagomori S, Oho T. Acid resistance of human enamel with Erbium:YAG laser. J Clin Laser Med Surg 1991;215-7.

Nara Y, Tagomori S, Numata Y, Morioka T. Effect of erbium:YAG laser irradiation on acid resistance of human tooth enamel. Surg Med Lasers 1990;3(4):201-10.

Navarro RS. Resistência à tração de resina composta sobre esmalte e dentina condicionados com laser de Er:YAG e um sistema adesivo auto-condicionante. Análise das superfícies pela microscopia eletrônica de varredura [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.

Navarro MFL, Pascotto, RC. Cimentos de ionômero de vidro-aplicações clínicas em Odontologia. São Paulo: Artes Médicas; 1998.

Nassif A. Estudo in vitro da interferência da clorexidina na resistência e morfologia de união de dois cimentos ionoméricos, indicados para restauração atraumática, à dentina de dentes decíduos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Negri HM, Cury JA. Dose-response effect of a dentifrice formulation with low fluoride concentration- an in vitro study. *Pesqui Odontol Bras* 2002;16:361-5.

Neter J, Kutner M H, Nachtsheim CJ, Wasserman W. *Applied linear statistical models*. 4 ed. Boston: Irwin; 1996.

Nobre dos Santos M, Featherstone JDB, Fried D. Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on sound and demineralized enamel. *Proc SPIE* 2001;4249:169-74.

Oho T, Morioka T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res* 1990;24:86-92.

Okuda M, Pereira PNR, Nikaido T, Tagami J. Evaluation of in vitro secondary caries using confocal laser scanning microscope and X-ray analytical microscope. *Am J Dent* 2003;16(3):191-6.

Oliveira MV, Quinto Jr. J, Rattichieri F, Zezell DM, Eduardo CP, Wetter NU. Morphological and thermal analysis of resolidied dental enamel surface after dye-assisted irradiation with a 960-nm diode laser. *J Oral Laser Applic* 2001;1:201-6.

Paghdwala AF, Vaidyanathan TK, Paghdwala MF. Evaluation of erbium:YAG laser radiation of hard dental tissues: analysis of temperature changes, depth of cuts and structural effects. *Scanning Microsc* 1993;7(3):989-97.

Pelagalli J, Gimbell CB, Hansen RT, Swett A, Winnli DW. Investigation study of the use of Er:YAG laser versus dental drill for caries removal and cavity preparation and cavity preparation - Phase I. *J Clin Laser Med Surg* 1997;15:109-15.

Pereira PNR, Inokoshi S, Tagami J. In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *J Dent* 1998;26:505-10.

Pereira PNR, Inokoshi S, Yamada T, Tagami J. Microhardness of *in vitro* caries inhibition zone adjacent to conventional and resin modified glass-ionomer cements. *Dent Mat* 1998;14(3):179-85.

Peris AR, Mitsui FHO, Lobo MM, Bedran-Russo AKB, Marchi GM. Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dent Mater* 2007;23:308-16.

Peters MC, McLean ME. Minimally invasive operative care. I- Minimal intervention and concepts for minimally invasive cavity preparations. *J Adhes Dent* 2001;3:7-16.

Peutzfeldt A, Garcia-Godoy F, Asmussen E. Surface hardness and wear of glass-ionomer and compomers. *Am J Dent* 1997;10(1):15-7.

Pitts NB. Modern concepts of caries measurement. *J Dent Res* 2004;83(Spec issue C):C43-C47.

Raggio DP. Avaliação in vitro da microinfiltração, liberação de fluoreto e resistência adesiva de cinco cimentos de ionômero de vidro utilizados no tratamento restaurador atraumático (TRA) [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.

Raggio DP. Dureza Knoop de cimentos de ionômero de vidro indicados para o Tratamento Restaurador Atraumático (TRA) [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

Reis A, Loguercio AD, Azevedo CLN, Carvalho RM, Singer JM, Grande RHM. Moisture spectrum of demineralized dentin for different solvent-based adhesive system. *J Adhes Dent* 2003;5:183-92.

Rizoiu I, Kohanghadosh F, Kimmel AI, Eversole L. Pulpal thermal responses to an erbium,chromium:YSGG pulsed laser hydrokinectic system. *Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(2):220-3.

Rodrigues CRMD. Flúor em odontopediatria: abordagem racional racional. In: Dotto CA, Antoniazzi JH. *Opinion Makers- Odontopediatria*. São Paulo: VM Comunicações; 2002.

Rodrigues CRMD. Desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes a materiais restauradores, em dentes decíduos submetidos a diferentes modelos de desafio cariogênico [Tese de Livre-docência]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Rodrigues LKA, Santos MN, Pereira D, Assaf AV, Pardi V. Carbon dioxide laser in dental caries prevention. J Dent 2004;32:531-40.

Rodrigues JA, Marchi GM, Serra MC, Hara AT. Visual evaluation of in vitro cariostatic effect of restorative materials associated with dentifrices. Braz Dent J 2005;16(2):112-8.

Rothwell M, Anstice HM, Pearson GJ. The uptake and release of fluoride by ion-leaching cements after exposure to toothpaste. J Dent 1998;26(7):591-7.

Rutar J, Mcallan L, Tyas MJ. Clinical evaluation of a glass ionomer cement in primary molars. Pediatr Dent 2000; 22(6):486-8.

Salar DV, Garcia-Godoy F, Flaitz CM, Hicks MJ. Potential inhibition of demineralization in vitro by fluoride-releasing sealants. J Am Dent Assoc 2007;138(4):502-6.

Santaella MRLA, Braun A, Matson E, Frentzen M. Effect of diode laser and fluoride varnish on initial surface demineralization of primary dentition enamel: an *in vitro* study. Int J Paediatr Dent 2004;14:199-203.

Serra MC, Cury J. The *in vitro* effect of glass ionomer cement restoration on enamel subjacent to a demineralization and remineralization model. Quintessence Int 1992;23(2):143-7.

Serra. MC. Estudo *in vitro* do desenvolvimento de cárie em esmalte adjacente a materiais restauradores contendo flúor [Tese de Doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru da USP; 1995.

Serra MC, Pimenta LA, Paulillo LA. Dentística e manutenção de saúde bucal. In: Kriger L. Promoção de saúde bucal. São Paulo: Artes Médicas; 1997. p 201-53.

Sievers M, Koort HJ, Altshuler G, Erofeev A, Frentzen M. The ablation of dental hard tissues by Er:YSGG laser. In: 2th International Congress on Lasers in Dentistry; 1992; Salt Lake City. p. 255-6.

Smales RJ, Gao W. In vitro caries inhibition at enamel margins of glass ionomer restoratives developed for ART approach. J Dent 2000;28(4):249-56.

Stabholz A, Zeltser R, Sela M, Peretz B, Moshonov J, Ziskind D, et al. The use of lasers in dentistry: principles of operation and clinical applications. Compendium 2003;24:935-48.

Steiner-Oliveira C. Determinação de parâmetros de segurança e da associação do laser de CO₂ ($\lambda=10,6\mu\text{m}$) a compostos fluoretados na progressão da desmineralização do esmalte dentário- estudos in vitro [Dissertação de Mestrado] Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP; 2006.

Steiner-Oliveira C, Rodrigues LKA, Soares LES, Martin AA, Zezell DM, Nobre dos Santos. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6 μm CO₂ Laser on the inhibition of enamel demineralization. Dent Mater J 2006;25:455-62.

Tagomori S, Morioka T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. Caries Res 1989;23:225-31.

Takahashi K, Emilson CG, Birkhed D. Fluoride release *in vitro* from various glass ionomer cements and resin composites after exposure to NaF solutions. Dent Mater 1993;9(6):350-4.

Takeuti ML. Avaliação do desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes a diversos materiais restauradores em dentes decíduos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Tanji EY. Estudo in vitro da variação de temperatura em dentina irradiada com laser de Er:YAG- análise termográfica [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Tashima AY. Avaliação *in vitro* da morfologia e da capacidade de paralisação de lesões incipientes de cárie artificialmente induzidas em dentes decíduos após irradiação com laser de Er:YAG [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

Ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:201-10.

Ten Cate JM. Fluorides in caries prevention and control? Empiricism or science. *Caries Res* 2004;38:254-7.

Tenuta L MA, Pascotto RC, Navarro MFL, Francischone CE. Liberação de flúor de quatro cimentos de ionômero de vidro restauradores. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1997;11(4):249-253.

Theodoro LH, Haypek P, Bachmann L, Garcia VG, Sampaio JEC, Zezell DM, et al. Effect of Er:YAG and diode laser irradiation on root surface: morphological and thermal analysis. *J Periodontol* 2003;74:838-43.

Thylstrup A, Fejerskov O. Textbook of clinical cariology. Copenhagen: Munksgaard; 1995.

Tyas MJ. Cariostatic effect of glass-ionomer cement: a five-year clinical study. *Aust Dent J* 1991;36(3):236-9.

Uematsu NM, Myaki SI, Rodrigues CRMD, Rodrigues Filho L E, Ando T. Avaliação *in vitro* da liberação de flúor de cimentos de ionômero de vidro utilizados na técnica da restauração atraumática, antes e após a aplicação tópica de NaF 2%. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê* 1999;2(8):269-73.

Van Meerbeeck B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challengers. *Oper Dent* 2003;28:215-35.

Visuri SR, Walsh Jr. JT, Wigdor HA. Erbium:laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers Surg and Med* 1996;18(3):294-300.

Wang X, Matsumoto K. Pulpal response to cavity preparation by Er,Cr:YSGG laser: an in vitro study. *J Oral Laser Applic* 2005;5:23-30.

Watanabe H, Yamamoto H, Kawamura M, Okagami Y, Kataoka K, Ishikawa I. Acid resistance of the human teeth enamel irradiated by Er:YAG laser. In: 6th International Congress on Lasers in Dentistry; 1998; Maui. p.68-9.

Westerman G, Flaitz C, Powell GL, Hicks J. Enamel caries initiation and progression after argon laser irradiation: *in vitro* argon laser systems comparison. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20:257-62.

Wetter NU, Oliveira MV, Kito IT, Zezell DM, Eduardo CP, Viera Jr. ND. Estudo in vitro das alterações morfológicas do esmalte dentário irradiado com laser de diodo de alta potência: análise por microscopia eletrônica de varredura. *Rev Bras Pesq Desenvolvimento* 2002;4:14-9.

Wieganda A, Buchalla W, Attina T. Review on fluoride-releasing restorative materials—Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dental Mater* 2007;23:343–362.

Wigdor H, Elliot ABT, Ashrafi S, Walsh JT. The effect of lasers on dental hard tissues. *J Am Dent Assoc* 1993;124(2):65-70.

Wigdor H, Walsh JT, Featherstone JDB, Visuri SR, Fried D, Waldvogel JL. Lasers in Dentistry. *Lasers Surg Med* 1995;16:103-33.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J* 1972;132(4):133-5.

Visuri SR, Walsh Jr JT, Wigdor HA. Erbium:laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Laser Surg Med*, 1996;18(3):294-300.

Yap AUJ, Pek YS, Cheang P. Physico-mechanical properties of a fast-set highly viscous GIC restorative. *J Oral Rehabil* 2003;30(1):1-8.

Yap AUJ, Teo JCM, Teoh SH. Comparative wear resistance of reinforced glass-ionomer restorative materials. *Oper Dent* 2001;26(4):343-8.

Ying D, Chuah GK, Hsu CYS. Effect of Er:YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. *J Dent* 2004;32:41-6.

Yip HK, Lam WTC, Smales RJ. Fluoride release, weight loss and erosive wear of modern aesthetic restoratives. *Br Dent J* 1999;187(5):265-70.

Yu D, Kimura Y, Kinoshita J, Matsumoto K. Morphological and atomic analytical studies on enamel and dentin irradiated by an Erbium,Chromium:YSGG laser. *J Clin Laser Med Surg* 2000;18(3):139-43.

Zack L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;19(4):515-30.

Zero DT. Dental caries process. *Dent Clin North Am* 1999;43(4):635-64.

APÊNDICE A- Resultados inferenciais da comparação entre os Tempos para cada Grupo

Grupos	1 °dia e 3° dia		1° dia e 7 °dia		3° dia e 7° dia	
	Conclusão	p	Conclusão	p	Conclusão	p
11-Alta-rotação CIV	1 dia<3 dias	0,0143	iguais	0,9063	3 dias>7 dias	0,0196
12-Alta-rotação CIVRM	1 dia<3 dias	0,0001	1 dia<7 dias	<0,0001	3 dias<7 dias	0,0002
13-Alta-rotação RC	iguais	0,1716	1 dia<7 dias	<0,0001	3 dias<7 dias	<0,0001
21-Laser com 3W CIV	iguais	0,8137	iguais	0,1855	iguais	0,1193
22-Laser com 3W CIVRM	iguais	0,8470	iguais	0,7262	iguais	0,5871
23-Laser com 3W RC	iguais	0,7233	iguais	0,6566	iguais	0,9279
31-Laser com 4W CIV	1 dia<3 dias	0,0002	iguais	0,1092	3 dias>7 dias	<0,0001
32-Laser com 4W CIVRM	iguais	0,6297	iguais	0,2286	iguais	0,4695
33-Laser com 4W RC	iguais	0,7557	iguais	0,3187	iguais	0,1912
41-Laser com 5W CIV	iguais	0,9117	iguais	0,0576	3 dias>7 dias	0,0446
42-Laser com 5W CIVRM	iguais	0,0566	iguais	0,3219	iguais	0,3565
43-Laser com 5W RC	iguais	0,9542	iguais	0,4033	iguais	0,4364

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**PARECER DE APROVAÇÃO**
Protocolo 173/05

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Avaliação in vitro da influência de materiais restauradores liberadores de fluoretos na formação de lesões de cárie em cavidades preparadas com laser de Er, Cr: YSGG*", de responsabilidade do Pesquisador **Ricardo Scarparo Navarro**, sob orientação do Professor Doutor **Antonio Carlos Guedes Pinto**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 03 de novembro de 2005

Prof. Dr. **Rogério Nogueira de Oliveira**
Coordenador do CEP-FOUSP