UNIVERSIDADE DE UBERABA MESTRADO ACADÊMICO EM ODONTOLOGIA

LAURA OLIVEIRA DE MENDONÇA

INFLUÊNCIA DO USO DO *LASER* Er, Cr:YSGG ASSOCIADO OU NÃO AO VERNIZ FLUORETADO 5% NA PREVENÇÃO DE CÁRIE EM ESMALTE

LAURA OLIVEIRA DE MENDONÇA

INFLUÊNCIA DO USO DO *LASER* Er, Cr:YSGG ASSOCIADO OU NÃO AO VERNIZ FLUORETADO 5% NA PREVENÇÃO DE CÁRIE EM ESMALTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pósgraduação em Odontologia - Mestrado Acadêmico da Universidade de Uberaba, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de concentração em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri

UBERABA – MG 2017 Catalogação elaborada pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

Mendonça, Laura Oliveira de.

M523i Influência do uso do laser Er,Cr:YSGG associado ou não ao verniz fluoretado 5% na prevenção de cárie em esmalte. / Laura Oliveira de Mendonça. — Uberaba (MG), 2017.

40 f. il.: color.

Dissertação (mestrado) — Universidade de Uberaba. Programa de Pós-graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri.

1. Prevenção. 2. Lasers em odontologia. 3. Esmalte dentário. I. Lepri, Cesar Penazzo. II. Universidade de Uberaba. Programa de Pósgraduação em Odontologia. III. Título.

CDD 617.6

LAURA OLIVEIRA DE MENDONÇA

"INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO DO LASER Er, Cr: YSGG ASSOCIADO OU NÃO AO VERNIZ FLURETADO 5% NA PREVENÇÃO DE CÁRIE EM ESMALTE"

> Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Mestrado da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

Aprovado (a) em: 15/12/2017

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri Orientador

Universidade de Uberaba

Prof. Dr. Vinícius Rangel Geraldo Martins Universidade de Uberaba

Universidade de São Paulo - USP/RP

DEDICATÓRIA

À Deus

Pela saúde. Obrigada pela proteção e por iluminar meu caminho.

À minha família

Especialmente a Mamãe e Bibba meus maiores exemplos, Mulheres de fibra. Pelo cuidado, amor e todos os ensinamentos. Vocês que me ensinaram princípios como responsabilidade e honestidade. Obrigada por tudo que fizeram por mim.

Ao Mario, meu cunhado e Olivia minha afilhada, por trazerem tanta alegria para nossa família. E por incentivarem meu crescimento.

Ao Papai, Zizinho e as Tias pela torcida e carinho.

Aos meus avós que me protegem e guiam lá de cima.

Ao Guilherme

Por seu amor, companheirismo e compreensão. Por sempre me apoiar e incentivar.

A todos os meus amigos e familiares que de alguma maneira contribuíram para realização deste trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri, exemplo de caráter, ética e profissional. Muito obrigada pelos ensinamentos, compreensão e principalmente pela paciência.

AGRADECIMENTOS

Aos professores do mestrado por todo conhecimento, e disposição para nos ensinar.

Aos professores da banca de qualificação Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira, Thiago Assunção Valentino e Vinícius Rangel Geraldo Martins pela contribuição.

Aos professores da banca de defesa Vinícius Rangel Geraldo Martins, Andréa Cândido dos Reis, meu orientador Cesar Penazzo Lepri e professores suplentes, obrigada pela disposição e contribuição.

Aos professores Almir José Miranzi, Saturnino Calabrez Filho e Luis Henrique Borges pelos ensinamentos e apoio durante esse período.

À Brenda Ferreira Arantes pela amizade, companhia e incentivo durante todo o mestrado.

À Michelle Gomides pela ajuda.

À Flávia, secretária do Curso de Pós-Graduação da Universidade de Uberaba, pela dedicação ao trabalho e competência.

Ao Marcelo Hermeto, Martins e Antônio pela disponibilidade e apoio durante a fase laboratorial.

Aos meus colegas de Mestrado Júlio Cesar de Carvalho Alves, Júlio Cesar Lemos Duarte, Márcio Miranda Abdala, Rafael José Santos Rodrigues, Eleonora de Paula Amaral, Marco Antônio Maluf Curi, Sandro Cecilio Furiati.

À Universidade de Uberaba, através do Magnífico Reitor Dr. Marcelo Palmério;

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão da Universidade de Uberaba, na pessoa do Pró-Reitor Prof. Dr. André Luís Teixeira Fernandes;

À Universidade de São Paulo - Ribeirão Preto, pela disponibilização do laboratório:

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.



RESUMO

O objetivo deste estudo in vitro foi avaliar a influência da irradiação do laser Er, Cr: YSGG associado ou não ao verniz fluoretado 5% na prevenção de cárie em esmalte. Foram selecionados 40 incisivos bovinos; as dimensões dos espécimes foram: de 4mm x 4mm e 3mm de espessura, divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=10). G1- Irradiação com laser Er, Cr: YSGG; G2 - Aplicação de verniz fluoretado 5% + Irradiação com laser Er, Cr: YSGG; G3 - Aplicação de verniz fluoretado 5% (controle positivo); G4-Nenhum tratamento (controle negativo). Os espécimes foram submetidos a ciclagem de pH para simular uma situação de alto risco à cárie, imersos em soluções desmineralizante e remineralizante por 6 e 18 horas respectivamente, totalizando um período experimental de 14 dias. A avaliação dos tratamentos realizados nos grupos experimentais foi através dos testes de rugosidade superficial e de perda de volume, ambos por meio de microscopia confocal de varredura a laser. Avaliou-se a normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade (Levene's) dos dados. Após estas análises, os dados de rugosidade superficial foram submetidos ao teste estatístico de Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey, para a diferenciação da média dos grupos. Para o perfil de desgaste, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunn. Observou-se que o G4 apresentou os maiores valores de rugosidade superficial (3,208µm²±0,176µm²) após DES/RE (p<0,05). O G2 apresentou o menor percentual de perda de volume (5,9%±0,5%) enquanto o G4 mostrou o maior percentual $(35,7\%\pm1,7\%)$, ambos com p<0,05. Considerando os resultados obtidos e as limitações de um estudo in vitro, conclui-se que todos os grupos apresentaram menores valores de rugosidade superficial do que o grupo controle negativo. Para a perda de volume, a associação verniz fluoretado 5% + laser Er,Cr:YSGG mostrou o melhor resultado em comparação ao demais grupos.

Palavras-chave: Laser de YSGG, Cárie dentária, Prevenção.

A DOT		
ABST	LKA	

ABSTRACT

The aim of this in vitro study was to evaluate the influence of laser irradiation Er, Cr: YSGG associated or not to 5% fluoride varnish in the prevention of caries in enamel. Forty bovine incisors teeth were selected with dimensions of 4 mm x 4 mm and 3 mm thick and randomly divided into 4 groups (n=10). G1-laser irradiation with Er,Cr:YSGG; G2-5% fluoride varnish + Er,Cr:YSGG laser; G3-5% fluoride varnish application (positive control); G4-no treatment (negative control). The specimens were subjected to pH cycling to simulate a situation of high risk of caries, immersed in demineralizing (DE) and remineralizing (RE) solutions for 6 and 18 hours respectively and performing an experimental period of 14 days. The specimens were evaluated by surface roughness and wear profile (volume loss), using laser scanning confocal microscopy. The normality (Kolmogorov-Smirnov) and homogeneity (Levene's) tests were satisfied. After this, the surface roughness data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Tukey posthoc to differentiate the average of the groups. For wear profile, data were submitted to Kruskal-Wallis and Dunn post-hoc tests. It was observed that the G4 presented the highest values of surface roughness (3,208µm²±0,176µm²) after DE/RE. The G2 presented the lowest percentage of volume loss (5,9%±0,5%) while the G4 showed the greatest percentage percentual (35,7%±1,7%). Considering the results obtained and the limitations of an in vitro study, it is concluded that all groups showed lower surface roughness values than the negative control group. To the wear profile (volume loss) the association 5% fluoride varnish + Er,Cr:YSGG laser showed better results in comparison to other groups.

Keywords: YSGG Laser, Dental Caries, Prevention.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Preparo dos espécimes. A) Gotejador elétrico e cera para fixar o dente na placa acrílica. B) Dente fixado com cera para escultura. C) Coroa fixada com cera pegajosa. D) Máquina de corte - ISOMET® 1000. E) Dispositivo utilizado para o preparo dos espécimes. F) Dente sendo seccionado. G) Lixadeira e Politriz Metalográfica APL (Arotec). H) Espécime padronizado. I) Espécime após 3° camada de esmalte. J) Após aplicação da cera - Espécime pronto para receber o tratamento.

Figura 2. Metodologia empregada para ciclagem de pH. (Ciclos DES/RE).

Figura 3. Imagens obtidas através da microscopia confocal de varredura a laser. A) imagem representativa do G1 = laser. Observa-se redução bastante significativa da perda de volume após DES/RE em relação ao G4, além de diferenças morfológicas. B) perfilometria 3-D representativa do G2 = verniz fluoretado + laser. Perfil topográfico praticamente plano, apresentando a menor perda de volume dentre os grupos estudados. C) imagem representativa do G3 = grupo controle positivo (verniz fluoretado). Apesar das diferenças morfológicas, nota-se ligeira redução da perda de volume após DES/RE em relação ao G4. D) perfilometria 3-D representativa do grupo controle negativo (sem tratamento preventivo). A área em amarelo representa uma extensa perda de volume causada pelo processo DES/RE.

LISTA DE TABELAS

- **Tabela 1.** Tratamento dos espécimes/grupos experimentais (n=10)
- Tabela 2. Parâmetros de aplicação do laser Er, Cr: YSGG
- **Tabela 3.** Valores médios (desvio padrão) de rugosidade superficial (μm²) dos grupos estudados, considerando a área referência e a área tratada + DES/RE.
- Tabela 4. Valores percentuais de perda de volume nos grupos estudados

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVO	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Seleção de dentes	21
3.2 Preparo dos espécimes	21
3.3 Grupos Experimentais	22
3.4 Parâmetros do laser	22
3.5 Desafio cariogênico (ciclagem de pH)	22
3.6 Análise de Rugosidade Superficial e de Perda de Volume	23
3.7 Análise Estatística	24
4. RESULTADOS	25
4.1 Rugosidade superficial	26
4.2 Perda de volume	26
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	33
APÊNDICES	39

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é a doença de maior prevalência na cavidade oral, sendo a mais estudada (ALMEIDA *et al.*, 2012). A cárie dentária é uma doença bacteriana infecciosa, transmissível e multifatorial, causada primariamente por uma complexa interação entre o biofilme, uma dieta rica em carboidratos fermentáveis e a superfície dentária em função do tempo (HEYMANN *et al*; 2013). É um processo dinâmico que ocorre sobre o biofilme dental microbiano, resultando em desequilíbrio entre a superfície dentária e o biofilme adjacente, promovendo com o tempo a perda de mineral na superfície do dente. Esta perda pode refletir-se clinicamente de várias formas, desde perda de brilho no esmalte até cavidades extensas. Outros fatores, tais como fluxo e composição salivar, capacidade tampão, contato com fluoretos e história passada de cárie, que influenciam indiretamente o desenvolvimento de cárie esmalte, também possibilitam determinar o maior ou menor risco de desenvolvimento da lesão (FEJERSKOV., 2004; HEYMANN *et al.*, 2013).

Estudos prévios observaram que entre o esmalte e o ambiente oral ocorre um processo físico-químico de desmineralização *versus* remineralização (NYVAD *et al.*, 1997). Os íons flúor podem interferir no processo físico-químico da formação e progressão da cárie, inibindo a desmineralização e potencializando a remineralização (THEVADASS *et al.*, 1996; TEN CATE, 1999; FEATHERSTONE, 2000). Em altas concentrações também podem atuar sobre o metabolismo bacteriano, reduzindo a formação de ácidos (HAMILTON, 1990). Contudo, o efeito do flúor é parcial, uma vez que não impede a instalação da doença frente a um alto desafio cariogênico.

Produtos contendo fluoreto são bem conhecidos por desempenhar um papel importante na prevenção de cárie. No entanto, a utilização de produtos com flúor é um fator de risco para o desenvolvimento da fluorose. A utilização de novas técnicas e produtos que contém baixos níveis de fluoreto e novas técnicas, foram introduzidas para evitar a perda mineral do dente (FEATHERSTONE 2000; MASCARENHAS AK 2000).

Com a chegada do laser na área da odontologia clínica, grandes variedades de procedimentos são realizados com este dispositivo, como preparo de cavidade, remoção de cárie, remoção de restauração, condicionamento da superfície, tratamento da sensibilidade dentinária, prevenção de cárie e clareamento (HASHIM *et al.*, 2014).

Uma opção promissora para a prevenção é a utilização da irradiação laser. O primeiro trabalho publicado com a utilização de laser na Odontologia foi em 1964 (STERN & SOGNNAES). Eles utilizaram o laser de rubi para irradiar esmalte e dentina

e observaram redução da permeabilidade dentinária e consequentemente redução da desmineralização do esmalte dental. ADRIAN *et al* 1971 demonstraram por meio de pesquisas que o laser de rubi é nocivo no que se diz respeito à vitalidade pulpar, devido à grande quantidade de energia que é gerada, resultando em um calor excessivo e causando danos pulpares irreversíveis, considerando os parâmetros utilizados no estudo feito por estes pesquisadores. Trabalhos têm sido realizados na área de prevenção de cárie e têm demonstrado a redução de solubilidade do esmalte dental após a irradiação com lasers de alta intensidade (FREITAS, 2005).

Geraldo-Martins *et al* em 2013., verificaram que a irradiação do esmalte dental com lasers de alta potência mostrou ser eficaz na prevenção de cárie dentária, porque eles podem fornecer uma redução significativa na perda mineral pelos desafios ácidos na cavidade oral.

Estudos sobre os efeitos dos lasers (KANTOLA 1972; FEATHERSTONE *et al.* 1998; KANTOROWITZ *et al.* 1998) têm se concentrado no aumento da resistência à cárie através da redução da velocidade de desmineralização da subsuperfície de esmalte e dentina, contudo se desconhece as exatas razões que levam à inibição da formação de lesões cariosas com a utilização de lasers.

Estudos têm demonstrado que a associação de flúor e laser torna o esmalte mais resistente ao ácido em comparação ao laser ou tratamento com flúor isoladamente (BOARI et al., 2009; MARTINS et al., 2013; LIU et al., 2013; MATHEW et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2017). A razão para esse efeito é que a irradiação a laser de alta potência com parâmetros subablativos e tratamento com flúor podem transformar instantaneamente a hidroxiapatita do esmalte em hidroxiapatita fluoretada, reduzindo a solubilidade do esmalte e prevenção da desmineralização do esmalte (LIU et al., 2013). Além disso, o esmalte irradiado com laser pode reter os íons fluoreto mais do que o esmalte não irradiado, aumentando sua resistência à desmineralização ao longo do tempo (NAMMOUR et al., 2005).

Outra hipótese para explicar a razão pela qual os lasers podem aumentar a resistência ácida do esmalte dental foi proposta por Hsu e colaboradores no ano de 2000, que sugeriram a teoria do "bloqueio orgânico", quando a desnaturação parcial da matriz orgânica causada pela irradiação laser pode bloquear o caminho de difusão no esmalte, resultando no atraso da desmineralização do esmalte. Bloqueando o caminho de difusão pode-se afetar a porosidade e a área de micro superfície do esmalte. A matéria orgânica,

causando uma diminuição estatisticamente significativa no volume do poro e na área de superfície no esmalte após irradiação laser, pode ser determinante no bloqueio orgânico induzido pela irradiação laser e subsequentemente contribuir para a prevenção da desmineralização do esmalte (YING *et al.*, 2004).

Assim, o uso da irradiação laser de alta intensidade possibilita alterações morfológicas nos tecidos dentais duros e, dessa forma, pode ter um resultado mais duradouro e efetivo.

Desta forma a hipótese nula do presente estudo foi que os tratamentos realizados não produziriam diferenças significantes entre os grupos na rugosidade superficial e na perda de volume.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a influência da irradiação do laser Er,Cr:YSGG associado ou não ao verniz fluoretado 5% na prevenção de cárie em esmalte, utilizando os seguintes métodos de análises:

- -Rugosidade Superficial (parâmetro Ra em μ m), por meio de microscopia confocal de varredura a laser;
- -Avaliação do Perfil de Desgaste (percentual da perda de volume), por meio de microscopia confocal de varredura a laser.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção de dentes

Quarenta incisivos bovinos foram selecionados e limpos utilizando uma cureta periodontal e depois imersos em uma solução de formalina 10% (pH = 7) durante 7 dias para esterilização. Em seguida, estes dentes foram lavados e armazenados em água destilada em uma temperatura de 4°C, trocada diariamente por um período de 7 dias. (CICCONE-NOGUERIA, 2009).

3.2 Preparo dos espécimes

Os dentes foram seccionados separando-se a porção coronária da raiz com a utilização de um disco diamantado sob refrigeração na máquina de corte ISOMET® 1000 (Precision Saw Buehler, Illinois – EUA). O primeiro corte foi realizado com peça reta e disco de carburundum com refrigeração 1mm abaixo da junção esmalte-cemento. O segundo corte foi realizado na cortadeira metalográfica ISOMET 1000 no sentido mésiodistal. Apenas a coroa foi utilizada neste estudo (face vestibular). Após, foram novamente seccionados para se obter espécimes nas dimensões iniciais de 4mm x 4mm e 3mm de espessura. A planificação e polimento dos espécimes foram feitos na máquina Arotec APL-4 (Série 41042, Arotec S.A. indústria e comércio, Cotia-SP, Brasil), utilizando lixa d'água, carbureto de silício #1200, com refrigeração à água até a padronização em 4mm x 4mm x 3mm, resultando em uma área superficial de 16mm². Foram admitidas variações nas dimensões dos espécimes em 10%, para mais ou para menos.

Metade da superfície de cada espécime foi coberta com fita isolante. Aplicou-se três camadas de esmalte cosmético de unha vermelho e cera de esculpir, realizando a impermeabilização dos espécimes. Depois deste procedimento, removeu-se a fita isolante e cada espécime ficou com metade da superfície livre da proteção feita com esmalte e cera. Realizou-se marcas em uma das laterais para determinar o lado controle do espécime. Os espécimes ficaram armazenados em água destilada e deionizada em uma temperatura de 4°C até a realização do tratamento proposto, onde foram aleatoriamente divididos em 4 grupos (n=10), descritos na Tabela 1.

3.3 Grupos Experimentais

TABELA 1- Tratamento dos espécimes/grupos experimentais (n=10)

Grupos	Tratamento
G1	Irradiação com laser Er,Cr:YSGG
G2	Aplicação de verniz fluoretado 5% + Irradiação com <i>laser</i> Er,Cr:YSGG
G3	Aplicação de verniz fluoretado 5% (controle positivo)
G4	Nenhum tratamento (controle negativo)

O verniz fluoretado (fluoreto de sódio à 5%) aplicado foi o Duraphat[®] (Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda, São Paulo-SP, Brasil) com aplicador descartável (*microbrush*) e após 4 minutos o excesso foi removido com uma gaze estéril.

3.4 Parâmetros do laser

O equipamento de laser foi o Er,Cr:YSGG (*Waterlase Millennium*, *Biolase Technologies Inc.*, *San Clemente*, EUA) com os parâmetros descritos na tabela 2:

TABELA 2 - Parâmetros de aplicação do laser Er, Cr: YSGG

Potência	0,5W
Distância	1mm
Тетро	10 segundos
Modo de aplicação	Varredura
Comprimento de onda	2,78 μm
Diâmetro da fibra	600µm
Densidade de energia	8,92 J/cm ²

3.5 Desafio cariogênico (ciclagem de pH)

As amostras de cada grupo foram submetidas à ciclagem de pH para simular uma situação de altíssimo risco a cárie (n=10). Cada amostra foi mergulhada em recipientes plásticos de modo a deixar exposta apenas a superfície do esmalte em estudo (4,0mmX4,0mm), correspondente à área irradiada e área controle. Assim, as amostras foram armazenadas individualmente, em recipientes nos quais foram adicionadas as

soluções desmineralizante (DES) e remineralizante (RE). A solução desmineralizante (2mmol/1 de cálcio, 2mmol/1 de fosfato e 75mmol/1 de acetato em pH=4,6) foi colocada nos recipientes/espécimes e o volume foi determinado de acordo com a área exposta de cada fragmento e permanecerão imersas por 6 horas (FEATHERSTONE, 1996). Depois disso, foram removidas e lavadas com água destilada e deionizada por 10 segundos e levemente secas com papel absorvente. Em seguida, as amostras receberam a solução remineralizante (1,5mmol/1 de cálcio, 0,9mmol/1 de fosfato, 150mmol de cloreto de potássio e 20mmol/1 de tampão cacodilato de pH=7,0) que apresenta um grau de saturação dos minerais semelhante à saliva, e semelhante ao proposto por Ten Cate & Duijsters (1982), e ficaram imersas nesta por 18 horas. As soluções DES e RE foram substituídas diariamente, e as ciclagens ocorreram por 2 semanas, sendo que após 5 dias as amostras ficaram individualmente imersas em solução remineralizante por 2 dias (final de semana), totalizando então, um período experimental de 14 dias. As amostras ficaram armazenadas em estufa a 37°C durante todo este período.

Foram removidos o esmalte e a cera (área controle) de cada espécime utilizando o instrumental lecron. Não houve contato do instrumental com a superfície central do espécime, apenas nas laterais.

3.6 Análise de Rugosidade Superficial e de Perda de Volume.

Para a realização das análises de rugosidade superficial e de perda de volume, os espécimes foram posicionados paralelamente à mesa do microscópio confocal de varredura a laser LEXT (Olympus, Corp Japão) com o auxílio do paralelômetro.

Após selecionar a região central do espécime de 1mm x 1mm foi realizado a aquisição de imagens com uma lente de aumento de 10x de magnificação. Depois da obtenção das imagens, estas foram analisadas quanto à rugosidade superficial (parâmetro Ra-μm²) e ao perfil de desgaste (perda de volume-μm³). Para estas análises foi mensurada a região central (1mm²) englobando a área hígida (referência) e a área tratada + DES/RE. Os dados foram adquiridos por meio de um software específico (OLS4000®).

O perfil de desgaste foi determinado pela diferença entre o volume da área referência e a área tratada + DES/RE entre a linha média do gráfico. Os dados de perfil de desgaste foram obtidos em μm^3 e para os cálculos estatísticos transformados em porcentagem de perda de volume.

3.7 Análise Estatística

Inicialmente avaliou-se a normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade (Levene's) dos dados. Após estas análises, os dados de rugosidade superficial foram submetidos ao teste estatístico de Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey, para a diferenciação da média dos grupos. Para o perfil de desgaste, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunn. Todos estes testes adotaram o nível de significância de 5% (α =0,05).

4. RESULTADOS

4.1 Rugosidade superficial

Para a área de referência, todos os grupos apresentaram valores de rugosidade superficial com similaridade estatística (p>0,05).

Na área submetida à ciclagem DES/RE, os valores de rugosidade superficial do grupo controle negativo foram maiores (3,208μm²±0,176μm²) e com diferença estatisticamente significante dos demais grupos (p<0,05). Não houve diferença estatisticamente significante entre os demais grupos (p>0,05).

Os valores médios de rugosidade superficial seguidos do desvio padrão para cada grupo estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios (desvio padrão) de rugosidade superficial (μm²) dos grupos estudados, considerando a área referência e a área tratada + DES/RE.

Grupos	Área de Referência	Área DES/Re
Grupo 1 (Laser Er,Cr:YSGG)	0,847 (0,098) ^a	1,741 (0,063) ^b
Grupo 2 (Verniz fluoretado 5%	0,887 (0,074) ^a	1,722 (0,094) ^b
+ laser Er,Cr:YSGG)		
Grupo 3 (Verniz fluoretado 5%	0,813 (0,059) ^a	1,767 (0,088) ^b
controle positivo)		
Grupo 4 (Nenhum tratamento –	0,862 (0,061) ^a	3,208 (0,176) ^c
controle negativo)		

Letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significante (p<0,05).

4.2 Perda de volume

Em relação aos percentuais de volume perdido, observou-se que o G2 (verniz fluoretado 5% + laser) apresentou a menor perda de volume $(5,9\%\pm0,5\%)$ quando comparado aos demais grupos (p<0,05). Em contrapartida, a maior perda de volume $(35,7\%\pm1,7\%)$ foi observada no G4 (controle negativo) (p<0,05).

Tabela 4. Valores percentuais de perda de volume nos grupos estudados

Grupos	Perda de Volume (%)	Diferença Estatística
G1	14,7 (0,9)	b
G2	5,9 (0,5)	a
G3	26,1 (0,8)	С
G4	35,7 (1,7)	d

Letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significante.

5. DISCUSSÃO

Analisando os resultados de rugosidade superficial e perda de volume, verificouse que a hipótese nula do presente estudo foi rejeitada.

Os relatos da literatura (MCCORMACK *et al.* 1995; FEATHERSTONE *et al.* 1998; KANTOROWITZ *et al.* 1998) têm demonstrado que a irradiação do esmalte dental com *lasers* tem promovido redução significativa da perda mineral.

A padronização inicial dos espécimes foi confirmada através dos resultados de rugosidade superficial da área de referência, pois não houve diferença significante entre os grupos. Além disso, este resultado similar indica que a impermeabilização dos espécimes foi eficaz, uma vez que os valores de rugosidade superficial da área de referência foram menores do que a área DES/RE.

O G4 mostrou os maiores valores de rugosidade superficial na área DES/RE, demonstrando que a ausência de qualquer tipo de tratamento preventivo potencializa a ação da ciclagem química de soluções, corroborando com estudos prévios (MAJITHIA et al., 2016; LIPPERT, 2017).

Na análise da perda de volume, constatou-se que a utilização de verniz fluoretado foi satisfatória em comparação ao grupo controle negativo. Isto já era esperado pois a ação benéfica do flúor no processo DES/RE já foi amplamente estudada (VIEIRA AE *et al.*, 2005; ANA PA *et al.*, 2012). Entretanto, esta ação não é tão eficaz quando comparado aos grupos irradiados com laser Er,Cr:YSGG, notadamente na associação verniz fluoretado 5 % + laser.

Esta ação benéfica do flúor, porém inferior aos grupos irradiados, pode ser explicada pela necessidade de aplicações repetidas de fluoretos. Segundo (ORTIZ et al. 2016) o flúor importante na prevenção de cárie é aquele que está constantemente presente na cavidade oral. Além disso, maior concentração de fluoreto pode parcialmente compensar um maior risco de cárie sob um maior desafio cariogênico provocado pelo aumento de exposição ao açúcar (NORONHA et al., 2016).

Estudo recente também observou que há sinergismo significante entre fluoreto e laser na redução da solubilidade do esmalte dental (NOURELDIN *et al.*, 2016), em concordância aos resultados encontrados nesta dissertação. Estes achados orientam a necessidade de estudos futuros com aplicações repetidas de flúor.

Quanto ao uso do laser isoladamente, este também demonstrou baixo valor percentual de perda de volume (14,7%). Fried *et al* (1996) realizaram um trabalho sobre

prevenção de lesões de cárie com o laser de Er,Cr:YSGG e obtiveram inibição entre 25 e 60%, trabalhando com parâmetros sub ablativos, assim como no presente estudo.

Em 1965 Zach e Cohen demostraram que o tecido pulpar sadio não é afetado termicamente se o aumento de temperatura for menor que 5,5°C. Estudos recentes mostraram que a irradiação do laser não provoca aumento significativo na temperatura da polpa dental, ficando distante do limiar de segurança de 5,5°C, indicando ser um método seguro (GERALDO-MARTINS *et al.* 2005; RAUCCI-NETO W *et al.*, 2015; STRAKAS D *et al.*, 2016).

Abad-Gallegos *et al* (2009) concluíram que a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG utilizando 1W ou 2W por 30 segundos, com movimentos circulares contínuos por 2mm/s, ocasionou um aumento insignificante na temperatura da superfície radicular, sendo este aumento insuficiente para ocasionar danos aos tecidos circundantes (ligamento periodontal e osso alveolar) no tratamento dos dentes. Desta forma, considerando que a potência utilizada no presente estudo foi inferior (0,5W), assim como o tempo de irradiação (10 segundos), o uso de laser Er,Cr:YSGG é seguro e foi eficaz.

Segundo Hossain *et al* (2001) as alterações morfológicas descritas em esmalte dental irradiado e com menor solubilidade em meio ácido correspondem aos aspectos de derretimento e ressolidificação da superfície. No presente estudo, caso estas alterações sejam confirmadas por MEV, os resultados dos grupos irradiados, além de apresentarem menor perda de volume, também poderiam ser mais duradouros, diferentemente dos tratamentos realizados com compostos fluoretados, nos quais observa-se um resultado parcial e de curta duração.

A utilização do laser sem a refrigeração com água foi baseada em estudo anterior (RESENDE, 2016), onde comprovou-se que a água poderia ablacionar o tecido, gerando resultados indesejados. Assim, os parâmetros de irradiação são extremamente importantes nos estudos científicos e devem ser calibrados com rigor nos trabalhos *in vitro*.

Portanto, o uso do laser Er,Cr:YSGG foi eficaz na prevenção de cárie em esmalte, pois promoveu diminuição na perda de volume sem alterar significativamente a rugosidade superficial. A definição de novos parâmetros e o uso de fluoretos em mais de uma aplicação devem ser estudados no sentido da utilização clínica para a prevenção de cárie.

6. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos e as limitações de um estudo *in vitro*, concluise que todos os grupos apresentaram menores valores de rugosidade superficial do que o grupo controle negativo. Para a perda de volume, a associação verniz fluoretado 5% + laser Er,Cr:YSGG mostrou o melhor resultado em comparação aos demais grupos, sugerindo efeito sinérgico na prevenção de cárie.

REFERÊNCIAS

- Abad-Gallegos M, Arnabat-Domínguez J, España-Tost A, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. In vitro evaluation of the temperature increment at the external root surface after Er,Cr:YSGG laser irradiation of the root canal. Medicina Oral Patologia Oral e Cirugia Bucal. 2009;1;14 (12):e658-62.
- 2. Adrian JC, Bernier JL, Sprague WG. Laser and the dental pulp. **The Journal of the American Dental Association** 1971; 83-113.
- 3. Almeida, TF; Cangussu MCT; Chaves, SCL.: Amorim TM. Condições de saúde bucal em crianças, adolescentes e adultos cadastrados em unidades de Saúde da Família do município de Salvador, estado da Bahia, Brasil, em 2005. Epidemiologia e Serviço de Saúde, Brasília, v.21, n.1, p.109-118, jan-mar, 2012.
- 4. Ana PA, Tabchoury CP, Cury JA, Zezell DM. Effect of Er, Cr:YSGG laser and professional fluoride application on enamel demineralization and on fluoride retention. **Caries Research**, 2012;46(5):441-51.
- 5. Apel C, Meister J, Gttz H, Duschner H, mudanças Gutknecht N (2005). Structural changes in human dental enamel after subablative erbium laser irradiation and its potential use for caries prevention. **Caries Research**. 39: 65-70.
- 6. Boari, HGD, Ana PA, Eduardo CP, Powell GL, Zezell DM. Absorption and thermal study of dental enamel when irradiated with Nd:YAG laser with the aim of caries prevention. **Laser Physics** 2009;19:1463–1469.
- 7. Ciccone-Nogueira J, Influência de métodos de esterilização nas propriedades físicas do substrato dental. 2009 Tese (Doutorado Odontologia – área de concentração Odontologia Restauradora – Dentística) Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto
- 8. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. **Journal of American Dental Association**, v.131, p.887-889, 2000
- Featherstone JD, Barret-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz, Seka W. CO2 laser inhibitor of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. Journal of Dental Research, v.77, n.6, p.1397-403, Jun.1998.
- Fejerskov, O Kidd, E. Cárie Dentária. A doença e seu tratamento clínico. 2ed. São Paulo: Santos, 2011.
- 11. Freitas PM, Estudo *in vitro* da irradiação com o laser Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte. 2005 Tese (Doutorado em

- Odontologia área de concentração em Dentística) Faculdade de Odontologia de São Paulo USP, São Paulo.
- 12. Fried D, Featherstone JDB, Visuri SR, Seka W, Walsh JT. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation. In: Lasers in dentistry. Proceedings of the SPIE Meeting; 1996 Jan. 28-29; San Jose. Washington: Bellingham; 1996. p. 73-8.
- 13. Geraldo-Martins VR, Tanji E, Wetter N, Nogueira R, Eduardo C. Intrapulpal Temperature during Preparation with the Er:YAG Laser: An in Vitro Study. **Photomedicine and Laser Surgery** Volume 23, Number 2, 2005 Pp. 182–186
- 14. Geraldo-Martins VR, Lepri CP, Faraoni-Romano JJ, Palma Dibb RG (2014). The combined use of Er,Cr:YSGG laser and fluoride to prevent root dentin demineralization. **Lasers in Medical Science**. 22(5):459-64.
- 15. Geraldo-Martins VR, Lepri CP, Palma-Dibb RG. Influence of Er,Cr:YSGG laser irradiation on enamel caries prevention. **Lasers in Medical Science** 2013;28:33-39.
- 16. Hamilton IR. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. **Journal of Dental Research**, 69 Spec No:660-7; discussion 682-3, 1990.
- 17. Hashim, NT, Gasmalla, BG, Sabahelkheir, AH, Awooda, AM. Effect of the clinical application of the diode laser (810nm) in the treatment of dentine hypersensitivity.

 Medical Research Methodology Notes 2014.
- 18. Heymann O, Swift Jr E, Ritter A. Sturdevant Arte e Ciência da Dentística Operatória. 6ª Ed. Elsevier. Rio de Janeiro, RJ
- 19. 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. Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery 1999. 17:155-9
- 20. Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO2 laser irradiation and organic matrix on inhibition of enamel demineralization. **Journal of Dental Research**, v.79, n.9, p.1723-30, 2000.
- 21. Kantola S. Laser-induced effects on tooth structure. I A study of changes in the calcium and phosphorus contents in dentine by electron probe microanalysis. Acta Odontologica Scandinavica, v.30, n.4, p.463-74, 1972.

- 22. Kantorowitz Z, Featherstone JD, Fried D. Caries prevention by CO2 laser treatment: dependency on the number of pulses used. **Journal of American Dental Association**, v.129, n.5, p.585-91, 1998.
- 23. Lippert F. Effect of Enamel Caries Lesion Baseline Severity on Fluoride Dose-Response. **International Journal of Dentistry**. 2017.
- 24. Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Potential mechanism for the laserfluoride effect on enamel demineralization. **Journal of Dental Research** 2013;92:71-75.
- 25. Majithia U, Venkataraghavan K, Choudhary P, Trivedi K, Shah S, Virda M. Comparative evaluation of application of different fluoride varnishes on artificial early enamel lesion: An in vitro study. **Indian Journal of Dental Research.** 2016 Sep-Oct;27(5):521-527
- 26. Mascarenhas AK Risk factors for dental fluorosis: a re-view of the recent literature. **Pediatric Dental Journal**, v.22, p.269-277, 2000.
- 27. Mccormack SM, Fried D, Featherstone JD, Glena RE, Seka W. Scanning electron microscope observations of CO2 laser effects on dental enamel. **Journal of Dental Research**, v.74, n.10, p.1702-8, 1995.
- 28. Mathew A, Reddy NV, Sugumaran DK, Peter J, Shameer M, Dauravu LM. Acquired acid resistance of human enamel treated with laser (Er:YAG laser and CO2 laser) and acidulated phosphate fluoride treatment: An in vitro atomic emission spectrometry analysis. **Contemporary Clinical Dentistry** 2013;4:170-175.
- 29. Nammour S, Rocca JP, Pireaux JJ, Powell GL, Morciaux Y, Demortier G. Increase of enamel fluoride retention by low fluence argon laser beam: a 6-month follow-up study in vivo. **Lasers** in **Surgery and Medicine** 2005;36:220-224.
- 30. Nogueira R, Silva C, Lepri C, Palma-Dibb R, Martins-Geraldo V. Evaluation of Surface Roughness and Bacterial Adhesion on Tooth Enamel Irradiated With High Intensity Lasers. **Brazilian Dental Journal** (2017) 28(1): 24-29
- 31. Noronha M, Romão D, Cury J, Tabchoury C. Effect of Fluoride Concentration on Reduction of Enamel Demineralization According to the Cariogenic Challenge.

 Brazilian Dental Journal (2016) 27(4): 393-398
- 32. Noureldin A, Quintanilla I, Kontogiorgos E, Jones D. Enamel-Caries Prevention Using Two Applications of Fluoride-Laser Sequence. **Texas Dental Journal**. 2016 Mar;133(3):184-9.

- 33. Nyvad, Ten Cate JM, Jejerskov O. Arrest of root surface caries in situ. **Journal of Dental Research**, v.76, n.12, p.1845-53, 1997.
- 34. Ortiz A, Tenuta L, Tabchoury C, Cury J. Anticaries Potential of Low Fluoride Dentifrices Found in The Brazilian Market. **Brazilian Dental Journal** (2016) 27(3): 1-5
- 35. Raucci-Neto W, Raquel Dos Santos C, Augusto de Lima F, Pécora JD, Bachmann L, Palma-Dibb RG (2015). Thermal effects and morphological aspects of varying Er:YAG laser energy on demineralized dentin removal: an in vitro study. . 30(4):1231-6.
- 36. Resende R, Influência do laser Er, Cr: YSGG associado ou não ao verniz fluoretado na resistência ácida da dentina após desafio erosivo. 2016 Dissertação (Mestrado Odontologia área de concentração em Biomateriais) Universidade de Uberaba, Uberaba, 2016.
- 37. Robertson, MA; Kau, CH; English, JD; Lee RP: Powers, J; Nguyen, JT. MI Past Plus to prevent desmineralization in orthodontic patientes: a prospective randomized controlled trial. **American Journal of Orthodontics** and **Dentofacial Orthopedics**. 2011; 140:660-688.
- 38. Sognnaes RF, Stern RH. Laser effect on resistance of human dental enamel to demineralization in vitro. **Journal of South California State Dental Association**, v.33, p.328-9, 1965.
- 39. Strakas D, Tolidis K, Koliniotou-Koumpia E, Vanweersch L, Franzen R, Gutknecht N (2016). Intra-pulpal temperature rise of different tooth types during dental bleaching supported by an Er,Cr:YSGG laser. A pilot study. **Lasers Medical Science** 31 (1): 77-82.
- 40. Ten Cate, JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. **Acta Odontontologica Scandinavica**, v.57, n.6, p.325-9, 1999.
- 41. Thevadass KP, Pearson GJ, Anstice HM, Davies EH. Method for enhancing the fluoride release of a glass-ionomer cement. **Biomaterials**, v.17, n.4, p.425-9, 1996.
- 42. Vieira AE, Delbem AC, Sassaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. Caries Research. 2005 Nov-Dec;39(6):514-20.
- 43. Ying D, Chuah GK, Hsu CY. Effect of Er:YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. **Journal of Dental Research**, v. 32, n.1, p. 41-6, 2004.

44. Zach L, Cohen D H (1965). Pulp response to externally applied heat. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology,** v. 19, p. 515-530.

APÊNDICES

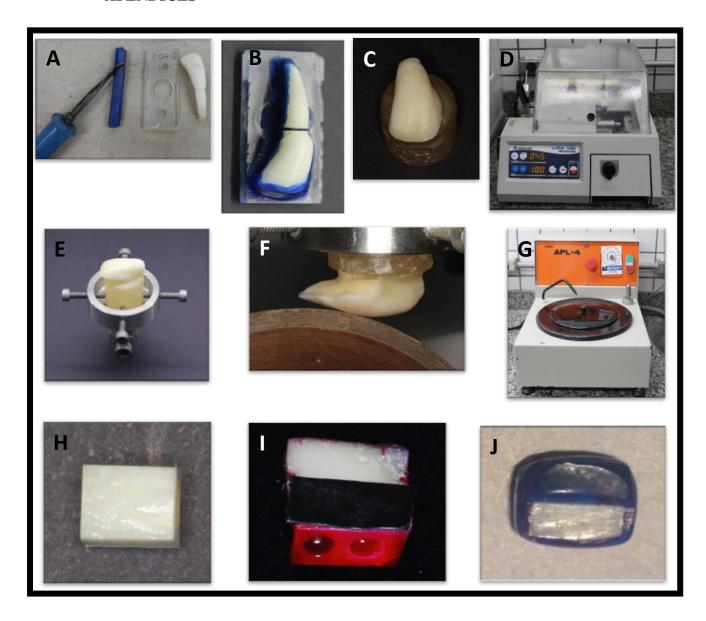


Figura 1. Preparo dos espécimes. A) Gotejador elétrico e cera para fixar o dente na placa acrílica. B) Dente fixado com cera para escultura. C) Coroa fixada com cera pegajosa. D) Máquina de corte - ISOMET® 1000. E) Dispositivo utilizado para o preparo dos espécimes. F) Dente sendo seccionado. G) Lixadeira e Politriz Metalográfica APL (Arotec). H) Espécime padronizado. I) Espécime após 3° camada de esmalte. J) Após aplicação da cera - Espécime pronto para receber o tratamento.

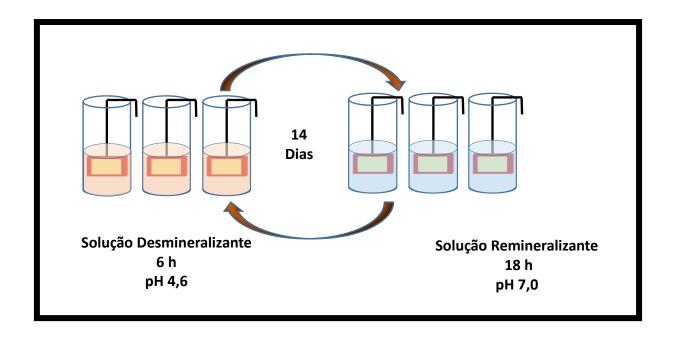


Figura 2. Metodologia empregada para ciclagem de pH. Ciclos Des/Re

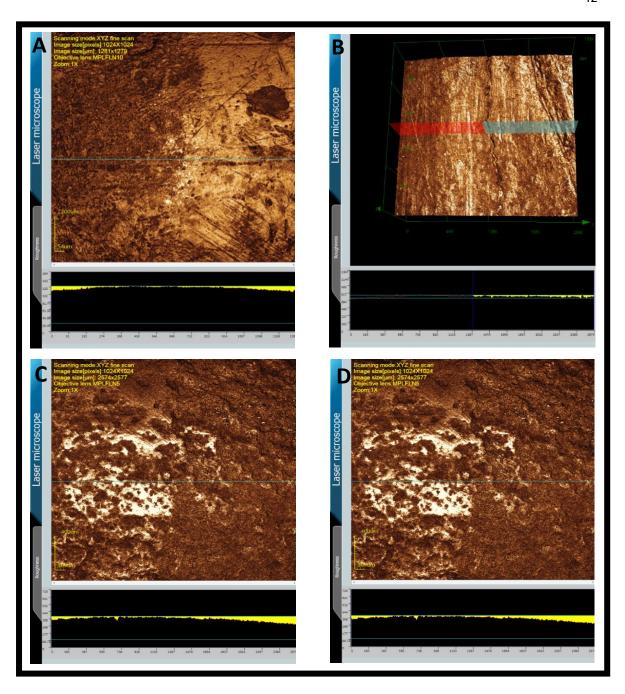


Figura 3: Imagens obtidas através da microscopia confocal de varredura a laser. A) imagem representativa do G1 = laser. Observa-se redução bastante significativa da perda de volume após DES/RE em relação ao G4, além de diferenças morfológicas. B) perfilometria 3-D representativa do G2 = verniz fluoretado + laser. Perfil topográfico praticamente plano, apresentando a menor perda de volume dentre os grupos estudados. C) imagem representativa do G3 = grupo controle positivo (verniz fluoretado). Apesar das diferenças morfológicas, nota-se ligeira redução da perda de volume após DES/RE em relação ao G4. D) perfilometria 3-D representativa do grupo controle negativo (sem tratamento preventivo). A área em amarelo representa uma extensa perda de volume causada pelo processo DES/RE.