

Efeito da irradiação com laser de argônio associado ou não a flúor na morfologia superficial do esmalte dentário bovino

Effect of argon laser irradiation associated or not with fluoride on the surface morphology of bovine dental enamel

Ana del Carmen Armas Vega*
Patrícia Ramos Lloret**
Kátia Martins Rode***
Ana Carolina Pedreira de Freitas***
Márcia Martins Marques****

Resumo

Introdução – Novas tecnologias, como irradiação com laser de argônio, têm sido indicadas na tentativa de se incrementar a resistência do esmalte à desmineralização. O objetivo deste estudo foi observar a morfologia da superfície do esmalte após: irradiação com laser de argônio, aplicação tópica de flúor acidulado, bem como após a sua associação. **Material e Métodos** – Foram utilizados fragmentos de esmalte bovino da face vestibular de 15 dentes. Após a profilaxia, as amostras foram divididas em 5 grupos: 1 – controle (sem tratamento); 2 – aplicação de flúor acidulado (1,23 %, 4 min, pH 3); 3 – irradiação com laser de argônio (250 mW, 120 s e 107 J/cm²), 4 – aplicação de laser, seguido do flúor; 5 – aplicação de flúor seguido do laser nos mesmos parâmetros do grupo III. As amostras foram então preparadas para microscopia eletrônica de varredura. **Resultados** – O esmalte que entrou em contato com o flúor acidulado, exclusivamente (G2) ou antes da irradiação (G5), apresentou superfícies com sulcos menos profundos que o das superfícies controle (G1) e dos grupos onde não houve aplicação de flúor (G3) ou este foi aplicado após a irradiação (G4). Os grupos tratados inicialmente com laser (G3, G4) mantiveram a morfologia superficial semelhante à do grupo controle (G1). **Conclusão** – O flúor criou superfície mais lisa que a do controle, portanto houve uma leve desmineralização, que não ocorreu quando o esmalte foi previamente irradiado. Adicionalmente, a ação desmineralizante do flúor foi potencializada pelo laser. Esses resultados sugerem que a irradiação com laser de argônio poderia ser capaz de aumentar a resistência do esmalte à desmineralização.

Palavras-chave: Flúor; Suscetibilidade à cárie dentária; Terapia a laser de baixa intensidade; Argônio

Abstract

Introduction – New technologies, as the argon laser use, have been indicated attempting to increase the enamel demineralization resistance. The aim of this study was to observe the dental enamel surface morphology after argon laser irradiation, fluoridization and their association. **Material and Methods** – Fragments of vestibular face of bovine enamel from 15 teeth were divided into 5 experimental groups: 1 – control (no treatment); 2 – fluoridization with acidulated phosphate fluoride (1.23 %, pH 3, 4 min), 3 – argon laser irradiation (250 mW, 120 s and 107 J/cm²), 4 – argon laser irradiation followed by fluoridization; 5 – fluoridization followed by argon laser irradiation in the same parameters of group 3. The samples were prepared for scanning electron microscopy. **Results** – The enamel treated by fluoridization, exclusively (G2) or before the irradiation (G5), presented surfaces with less deep grooves than that of control (G1) and from groups non-treated with fluoridization (G3) or when this was applied after irradiation (G4). The groups initially irradiated (G3, G4) maintained the superficial morphology similar to that of control (G1). **Conclusion** – The fluoridization created smoother surfaces than control, thus promoted a light demineralization that has not occurred at the enamel previously irradiated. This result suggests that argon laser irradiation could be able to increase the enamel demineralization resistance.

Key words: Fluorine; Dental caries susceptibility; Laser therapy, low-level

Introdução

A cárie dentária é causada pela placa presente na superfície do dente que consiste em um filme bacteria-

no que produz ácidos como bioproduto de seu metabolismo. Algumas bactérias presentes na placa são acidogênicas. Este ácido pode dissolver o fosfato de cálcio mineral do esmalte ou dentina em um processo denomi-

* Doutora pelo Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP).

** Doutoranda no Departamento de Dentística da FOUSP.

*** Mestranda no Departamento de Dentística da FOUSP.

**** Professora Associada do Departamento de Dentística da FOUSP. E-mail: mmmarques@usp.br

nado desmineralização.⁷ Esta desmineralização é produto da perda de íons cálcio da superfície dos cristais de apatita presentes nos três tecidos calcificados do dente, sendo normalmente compensado pela remineralização, a qual é produto do ganho destes íons; tudo isto, proveniente do meio bucal.⁴

Nos últimos anos, o índice cariogênico vem apresentando uma diminuição devido aos modernos critérios preventivos implantados e aos benefícios do uso do flúor.^{5,12,20} Diversas pesquisas têm comprovado a eficácia da aplicação de flúor fosfato acidulado por 1 a 4 minutos na diminuição da profundidade de lesões em esmalte quando este é submetido a desafio cariogênico.^{11,13,17}

Na última década, interesse especial tem crescido a respeito do efeito dos lasers sobre o tecido dentário. Alguns estudos em laboratório têm demonstrado a ação do laser em ablação e prevenção, selamento de ápice radicular, polimerização de alguns materiais restauradores, e a fusão da hidroxiapatita ao esmalte compondo depressões e fissuras¹⁶.

Com o intuito de intensificar a ação benéfica do flúor, pesquisadores têm incorporado à terapêutica com flúor a aplicação da irradiação com laser de argônio devido às características monocromáticas, unidirecionais e à colimação que este possui.²⁹

O objetivo deste estudo foi observar a interação entre o uso do laser de argônio e a aplicação tópica de flúor sobre a morfologia do esmalte de dentes bovinos.

Material e Métodos

Foram utilizados 15 fragmentos quadrados de esmalte de 0,5 cm de lado, provenientes do terço incisal de incisivos inferiores bovinos, os quais foram seccionados com o uso de um disco diamantado e micro-motor (intra-lock, Kavo do Brasil, Brasil). Estes fragmentos foram limpos com pasta de pedra pomes e água aplicada com taça de borracha em contra-ângulo (intra-lock, Kavo do Brasil, Brasil). As amostras foram divididas em 5 grupos sendo cada um constituído por três fragmentos. Característica dos grupos de estudo: Grupo 1 – controle (sem tratamento). Grupo 2 – controle positivo, com aplicação de flúor fosfato acidulado em gel numa concentração de 1,23 % (Sultan Topex, DFL – Brasil, com pH 3) sobre a superfície de esmalte de forma inativa por meio de bolinha de algodão durante 4 min.¹⁵⁻¹⁶ Depois os corpos de prova foram lavados com *spray* ar-água. Grupo 3 – foi realizada a irradiação com laser de argônio. Grupo 4 – foi realizada irradiação com laser de argônio, seguida por aplicação do flúor fosfato acidulado (Sultan Topex); os corpos de prova foram lavados com *spray* ar-água. Grupo 5 – foi aplicado o flúor (Sultan Topex), lavados com *spray* ar/água, secos com jato de ar e a seguir irradiados com laser de argônio. As irradiações foram realizadas com laser de argônio (Accucure 3000, LaserMed, EUA) nos seguintes parâmetros: potência de 250 mW por 120 segundos, com um *spot size* de 0,28 cm², resultando em uma densidade de energia de 107 J/cm².

Imediatamente após cada tratamento, as amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído a 2,5 % e sub-

metidas ao processo de desidratação por meio dos banhos de álcool e secagem com hexadimetil disilazona (HMDS), seguida de recobrimento com ouro para observação ao microscópio eletrônico de varredura.

As eletromicrografias foram obtidas de forma padronizada, em três diferentes regiões de cada amostra, terço superior esquerdo, terço inferior direito e terço médio central, com distância focal fixa em 20 mm e aumento de 1000 vezes.

A morfologia superficial do esmalte das amostras dos diferentes grupos foi comparada de forma qualitativa.

Resultados

Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 1. Superfícies de esmalte bovino somente limpas com pedrapomes e taça de borracha mostraram ranhuras profundas distribuídas por toda a superfície formando feixes em várias direções. A frequência de aparecimento dessas ranhuras era alta, sendo difícil observar áreas lisas, dando um aspecto corrugado ao esmalte (Figura 1A – Grupo controle). Quando essa superfície, previamente tratada com pedra-pomes e taça de borracha, foi submetida à aplicação de flúor fosfato acidulado a 1,23% durante 4 min (grupo 2) mostrou uma aparência diversificada daquela da superfície controle. Ao invés de grande quantidade de ranhuras, a superfície apresentou-se na sua maior parte lisa, com a presença de esparsas ranhuras de menor profundidade e mais largas que as ranhuras dos espécimes controle (Figura 1B).

Quando foi realizada a aplicação do laser de argônio na superfície de esmalte bovino previamente limpa (grupo 4) foi possível observar uma quantidade de ranhuras semelhante à encontrada no grupo controle, porém as ranhuras apresentaram maior profundidade e espessura, sendo também bem distribuídas por toda a superfície da amostra (Figura 1C). Da mesma forma, quando foi aplicado laser de argônio e em seguida flúor fosfato acidulado 1,23 % (grupo 4), observou-se uma superfície similar àquela do grupo só irradiado, com ranhuras discretamente mais profundas (Figura 1D). Já as superfícies do grupo em que foi aplicado o flúor fosfato acidulado 1,23 % e depois o laser (grupo 5) apresentou morfologia similar àquela do grupo só tratado com o flúor (grupo 3), porém com um maior espaçamento entre as ranhuras e estas com menor profundidade. As regiões entre estas ranhuras apresentaram um aspecto mais liso da superfície (Figura 1E).

Discussão

Na tentativa de se obter métodos alternativos de aumento de resistência ácida do esmalte, observou-se neste estudo *in vitro* a morfologia da superfície de esmalte através da associação ou não de um método já consagrado (flúor) com um método mais recente (laser).

Com o intuito de intensificar a ação benéfica do flúor, o uso do laser de argônio, devido às suas características peculiares, tem sido proposto por apresentar-se como uma alternativa eficaz quando aplicado nas superfícies de raiz^{15, 25} e de esmalte²⁵⁻²⁶.

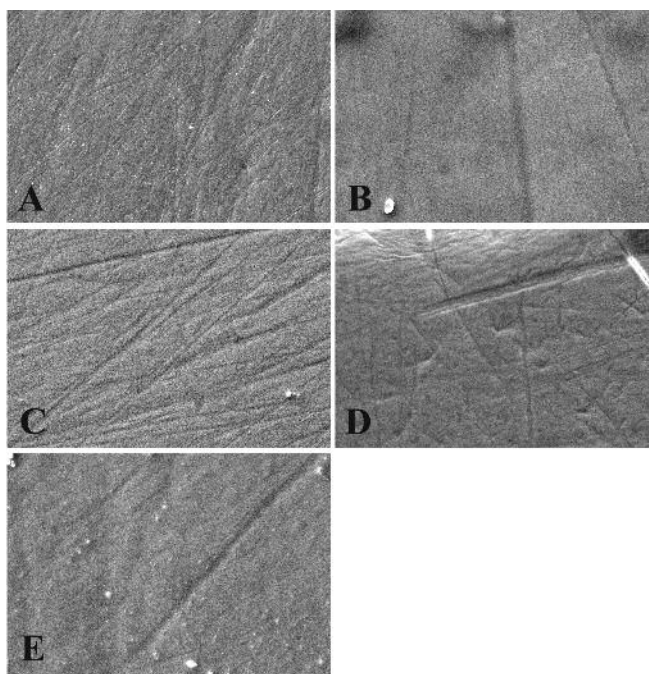


Figura 1. Eletro-micrografia de varredura da superfície de esmalte bovino. (A) – Grupo 1 (controle). Superfície de esmalte sem tratamento; (B) – Grupo 2. Superfície de esmalte que sofreu aplicação tópica de flúor fosfato acidulado 1,23 %; (C) – Grupo 3. Superfície de esmalte que sofreu irradiação com laser de argônio; (D) – Grupo 4. Superfície de esmalte que sofreu irradiação com laser de argônio seguida de aplicação tópica de flúor fosfato acidulado 1,23 % respectivamente (E) – Grupo 5. Superfície de esmalte onde foi aplicado topicamente flúor fosfato acidulado 1,23 % seguido de irradiação com laser de argônio. (Microscopia Eletrônica de Varredura - Aumento original: 1000X)

Neste estudo, foram observadas ranhuras na superfície de esmalte do grupo controle que devem ter sido causadas pela limpeza efetuada com pasta de pedra-pomes e taça de borracha. Apesar de a taça de borracha não apresentar poder abrasivo; segundo Salami e Luz¹⁹ (2003) a pedra-pomes, devido à sua consistência, apresenta um efeito abrasivo.

As superfícies de esmalte de dentes bovinos foram observadas após a aplicação de flúor fosfato acidulado associado ou não à irradiação com laser de argônio. Sob as condições do presente estudo, uma superfície mais lisa e com menos depressões foi observada quando foi realizada somente a aplicação de flúor fosfato acidulado 1,23% ou quando este foi utilizado antes da aplicação do laser de argônio. O flúor fosfato acidulado contém 0,98% de ácido fosfórico, e apresenta pH entre 3 e 5 que potencialmente é capaz de causar desmineralização de esmalte.²² Essa substância é capaz de condicionar a superfície de cerâmicas e de outros materiais restauradores^{6,8}, portanto isto poderia explicar o porquê da superfície tratada com o flúor acidulado ter se mostrado mais lisa que a superfície dos espécimes controle. Provavelmente o pH do flúor gel poderia ter

desmineralizado levemente a superfície do esmalte diminuindo a profundidade dos sulcos causados pela limpeza realizada com a pedra pomes. O mesmo resultado foi encontrado por Westerman *et al.*²⁸ (1999) quando foi observada a superfície da raiz de molares em MEV após a aplicação tópica de flúor fosfato acidulado.

O efeito na redução da solubilidade do esmalte, pela irradiação de laser de argônio *in vivo* avaliado em diferentes parâmetros (325 mW, ponta de saída 5 mm por 60 seg e 250 mW por 5 ou 10 seg), tem mostrado uma efetiva resistência à desmineralização das superfícies de esmalte com a subsequente redução de cáries.^{14-16, 29} Atualmente pode-se encontrar diferentes explicações para o aumento da resistência ácida do esmalte dentário tratado com laser. Algumas das explicações se baseiam na diminuição da permeabilidade do esmalte dentário, na alteração na sua composição química ou na combinação dos dois.²³ Qualquer uma dessas explicações poderiam vir acompanhadas de alterações morfológicas da superfície do esmalte irradiado o que justifica este estudo.

De acordo com a literatura, alguns autores afirmam que usando parâmetros de 11,5 J/cm²¹⁵ ou 100 J/cm²²¹ com o laser de argônio, seria possível observar ao MEV porosidades num diâmetro de 0,5 a 2 µm e um precipitado globular de minerais descontínuo nas superfícies de esmalte, sem expor o centro ou a periferia dos prismas, o que seria responsável pelo aumento da resistência às cáries e facilitaria a remineralização das superfícies. Foi utilizada uma densidade de energia (107 J/cm²) capaz de promover as mudanças estruturais do esmalte descritas acima, no entanto, neste estudo foi observado somente um aumento na profundidade das ranhuras superficiais, e exposição de prismas não foi observada. Possivelmente esta diferença de resultados tenha ocorrido devido ao fato de o substrato utilizado neste estudo ser proveniente de outra espécie animal, pois em dentes bovinos a camada aprismática do esmalte é mais espessa, portanto a exposição dos prismas é dificultada.

Nos grupos que foram tratados com laser seguido de flúor, também não foi observada diferença importante em relação ao grupo controle, este grupo comportou-se de maneira similar ao grupo somente irradiado. Porém, apesar do uso do flúor fosfato acidulado, não ocorreu a desmineralização superficial observada nos grupos tratados com flúor exclusivamente (grupo 2), ou antes da irradiação (grupo 4). Este achado indica que de alguma maneira, a irradiação antes da aplicação do flúor impediu que ocorresse a desmineralização superficial do esmalte irradiado e, portanto, indica que a irradiação aumentou a resistência do esmalte à desmineralização. Novos estudos que testem efetivamente a resistência ácida desta superfície devem ser realizados, no intuito de comprovar esta hipótese.

Quando o flúor foi aplicado antes da irradiação (grupo 5) observou-se uma suavidade maior na profundidade destas ranhuras. Foi possível observar ainda a presença de depressões que se assemelhavam a "colméias" demonstrando a desmineralização dos prismas de esmalte. Estas alterações poderiam ser resultantes

de uma potencialização da ação do flúor acidulado pela irradiação laser, que promoveria a difusão do flúor acidulado pela região interprismática expondo a região central destes prismas e se incorporando ao esmalte dentário.²⁴ Outros autores já haviam observado uma maior lisura na superfície de esmalte irradiado com laser logo após a aplicação do flúor²⁷. Esta observação constitui uma característica importante, já que o esmalte liso dificultaria a adesão e formação de biofilme bacteriano nas superfícies dificultando os processos de desmineralização^{1-3,18,24}.

Outros trabalhos têm demonstrado que a associação de laser e flúor é benéfica. De acordo com Hicks *et al.*¹⁵⁻¹⁶, a exposição do esmalte somente ao laser de argônio gerou uma redução na profundidade das lesões cáries em 30% quando submetido à indução de cárie; enquanto que houve uma redução de 50% a 60% na profundidade das lesões quando o flúor foi combinado ao laser. Isso talvez tenha sido observado porque o laser poderia trabalhar como um carregador do flúor, facilitando a incorporação do flúor ao esmalte quando este for utilizado após a aplicação do flúor. Este fato também foi sugerido por Tepper *et al.*²³ (2004) onde os autores afirmam que o tratamento da superfície de esmalte com laser aumenta significativamente a captação de flúor quando o esmalte é irradiado antes da aplicação do flúor. Além disso, estudos de laboratório têm demonstrado que o pH crítico para dissolução do

esmalte (pH 5,5) é diminuído consideravelmente pela irradiação com laser, chegando a pH 4,8. Na presença de apenas 0,1 ppm de flúor, o esmalte irradiado não sofrerá dissolução até que o pH crítico de 4,3 seja atingido⁹⁻¹⁰.

Pesquisas posteriores ainda são necessárias a fim de esclarecer os benefícios das técnicas empregadas. Uma proposta seria submeter as amostras a um desafio cariogênico para verificar a ocorrência de possíveis alterações no componente mineral (substrato) do esmalte após os mesmos tratamentos realizados neste experimento, uma vez que alterações morfológicas drásticas não puderam ser observadas neste trabalho.

Conclusão

Respeitadas as limitações deste trabalho, pode-se observar que a aplicação de flúor fosfato acidulado sobre o esmalte bovino propiciou o aparecimento de uma superfície mais lisa que a do controle, portanto houve uma leve desmineralização, que não ocorreu quando o esmalte foi previamente irradiado. Mais ainda, quando a irradiação foi realizada após a aplicação do flúor, a superfície do esmalte ficou ainda mais lisa indicando uma potencialização pelo laser da ação desmineralizadora do flúor. Esses resultados sugerem que a irradiação com laser de argônio poderia ser capaz de aumentar a resistência do esmalte à desmineralização.

Referências

1. Anderson JR, Ellis RW, Blankenau RJ, Beiraghi SM, Westerman GH. Caries resistance in enamel by laser irradiation and topical fluoride treatment. *J Clin Laser Med Surg*. 2000;18(1):22-6.
2. Anderson AM, Kao E, Gladwin M, Benli O, Ngan P. The effects of argon laser irradiation on enamel decalcification: An *in vivo* study. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2002;122(3):251-9.
3. Arima M, Matsumoto K. Effects of ARF, excimer laser irradiation on human enamel and dentin. *Lasers Surg Med*. 1993;13(1):97-105.
4. Banting DW. The diagnosis of root caries. *J Dent Educ*. 2001;65(10):991-6.
5. Bratthall D, Hansel PG, Sundberg H. Reasons for the caries decline- What do the experts believe? *Eur J Oral Sci*. 1996;104:416-22.
6. Benderli Y, Gokçe K, Kazak M. Effect of APF gel on micromorphology of resin modified glass-ionomer cements and flowable compomers. *J Oral Rehabil*. 2005;32: 669-75.
7. Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc*. 2000;131: 887-99.
8. Ferracane JL. Preventive materials. *In: Ferracane JL. Materials in Dentistry – Principles and applications*. Philadelphia: Lippincott; 1995. p. 51-2.
9. Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J, Powell G. Combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. *Caries Res*. 1992;26:333-9.
10. Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J, Powell GL. Initial dissolution rate studies on dental enamel after CO2 laser irradiation. *J Dent Res*. 1992; 71(7):1389-98.

11. Garcia Godoy F, Hicks MJ, Flaitz CM. Acidulated phosphate fluoride treatment and formation of caries like lesions in enamel: effect of application time. *J Clin Pediatr Dent.* 1995;19:105-10.
12. Gavazzi JC, Hofling JF, Moreira BW, Peters C, Subvertí AC, Cury JA. Previsores do incremento de cárie em crianças escolares brasileiras. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 1995;49(1):40-4.
13. Hawkins R, Locker D, Nobel J, Kay EJ. Prevention Part 7- Professionally applied topical fluorides for caries prevention. *Br Dent J.* 2003;195(6):313-7.
14. Hicks J, Winn D, Flaitz C, Powell L. *In vivo* caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment: a clinical pilot study. *Quintessence Int.* 2004;35:15-20.
15. Hicks JM, Westerman GH, Flaitz CM, Blankenau RJ, Powell L, Berg JH. Effects of argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride on root caries. *Am J Dent.* 1995; 8(1):10-4.
16. Hicks MJ, Flaitz CM, Westerman GH, Blankenau RJ, Powell GL, Berg JH. Enamel caries initiation and progression following low fluency (energy) argon laser and fluoride treatment. *J Clin Pediatr Dent.* 1995; 20(1):9-13.
17. Leme AFP, Tabchoury CPM, Zero DT, Cury JA. Effect of fluoridated dentifrice and acidulated phosphate fluoride application on early artificial carious lesions. *Am J Dent.* 2003;16(2):91-5.
18. Noel L, Rebellato J, Sheats RD. The effect of argon laser irradiation on demineralization resistance of human enamel adjacent to orthodontic brackets: an *in vitro* study. *Angle Orthod.* 2003; 73(3):249-58.
19. Salami D, Luz MAAC. Effect of prophylactic treatments on the superficial roughness of dental tissues and of two esthetic restorative materials. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(1):63-8.
20. Santos EM. Recidiva de cárie: estudo da incidência de placa bacteriana em superfícies restauradas com amalgama e resina composta. *Odontol Mod.* 1992;19(2):20-2.
21. Serra GG, Morais LS, Bolognese AM. Os efeitos do laser de argônio no esmalte humano durante a colagem ortodôntica (resumo Pa 016). *Braz Oral Res.* 2004;18:112.
22. Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A; Garone Netto N. Influence of the liquid acid diet on the development of dental erosion. *Pesqui Odontol Bras.* 2000;14 (4):406-10.
23. Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO2 laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel *in vitro*. *J Dent.* 2004; 32:635-41.
24. Westerman GH, Flaitz CM, Powell GL, Hicks MJ. Enamel caries initiation and progression after argon laser irradiation *in vitro* argon laser systems comparison. *J Clin Laser Med Surg.* 2002;20(5): 257-67.
25. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Powell GL. *In vitro* caries formation in primary tooth enamel: role of argon laser irradiation and remineralizing solution treatment. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137(5):638-44.
26. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Powell GL. *In vitro* enamel caries formation: argon laser, light-emitting diode and APF treatment effect. *Am J Dent.* 2004;17(6):383-7.
27. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Blankenau RJ, Powell GL. Argon laser irradiation effects on sound root surfaces: *in vitro* scanning electron microscopic observations. *J Clin Laser Med Surg.* 1998; 16(2):111-5.
28. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Blankenau RJ, Powell GL. Combined effects of acidulated phosphate fluoride and argon laser on sound root surface morphology: an *in vitro* scanning electron microscopy study. *J Clin Laser Med Surg.* 1999; 17 (2):63-8.
29. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Powell GL, Blankenau RJ. Surface morphology of sound enamel after argon laser irradiation: an *in vitro* scanning electron microscopic study. *J Clin Pediatr Dent.* 1996;21(1):55-9.

Recebido em 20/12/2006

Aceito em 23/1/2007