

## Comparação do conteúdo de fosfato em esmalte dentário hipomineralizado e saudável utilizando espectroscopia Raman

Joseph Ulate Jiménez<sup>1</sup> , Yesenia Sayuri Marciaga Camargo<sup>1</sup> ,  
Adrian José Gómez-Fernández<sup>1</sup> .

**Resumo:** **Introdução:** A hipomineralização molar está associada a alterações na composição mineral do esmalte dentário, as quais podem ser avaliadas por meio da espectroscopia Raman. **Objetivo:** Comparar a concentração de fosfatos entre esmalte saudável e esmalte com hipomineralização, utilizando a espectroscopia Raman como método de análise. **Métodos:** Foram analisadas 16 amostras dentárias extraídas com lesões compatíveis com hipomineralização molar, selecionadas de acordo com critérios de inclusão e exclusão. Em cada amostra, foram identificadas áreas saudáveis e áreas hipomineralizadas, e espectros Raman foram obtidos para determinar a intensidade do pico correspondente ao íon fosfato. **Resultados:** A intensidade espectral do íon fosfato foi consistentemente menor nas áreas hipomineralizadas em comparação com as saudáveis. A análise de variância (ANOVA) revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos clínicos conforme a cor da lesão ( $p < 0,05$ ). **Conclusões:** Observou-se uma diminuição significativa na concentração de fosfatos no esmalte hipomineralizado, especialmente nas lesões de maior gravidade clínica, o que pode estar relacionado à sua maior fragilidade e suscetibilidade à fratura e à cárie.

**Palavras-chave:** hipomineralização, espectroscopia Raman, hidroxiapatita, esmalte dentário.

## Comparación del contenido de fosfato en esmalte dental hipomineralizado y sano mediante espectroscopía Raman

**Resumen:** **Introducción:** La hipomineralización molar se asocia con alteraciones en la composición mineral del esmalte dental, las cuales pueden ser evaluadas mediante espectroscopía Raman. **Objetivo:** Comparar la concentración de fosfatos entre esmalte sano y esmalte con hipomineralización, utilizando espectroscopía Raman como método de análisis. **Métodos:** Se analizaron 16 muestras dentales extraídas con lesiones compatibles con hipomineralización molar, seleccionadas según criterios de inclusión y exclusión. En cada muestra se identificaron zonas sanas y zonas hipomineralizadas, y se obtuvieron espectros Raman para determinar la intensidad del pico correspondiente al ion fosfato. **Resultados:** La intensidad espectral del ion fosfato fue consistentemente menor en las zonas hipomineralizadas en comparación con las sanas. El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias estadísticamente significativas entre los grupos clínicos según el color de la lesión ( $p < 0,05$ ). **Conclusiones:** Se observó una disminución significativa en la concentración de fosfatos en el esmalte hipomineralizado, especialmente en las lesiones de mayor severidad clínica, lo que podría estar relacionado con su mayor fragilidad y susceptibilidad a la fractura y avance de lesiones de caries.

**Palabras clave:** hipomineralización, espectroscopía Raman, hidroxiapatita, esmalte dental.

---

<sup>1</sup>Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

## Comparison of Phosphate Content in Hypomineralized and Sound Dental Enamel Using Raman Spectroscopy

**Abstract:** **Introduction:** Molar hypomineralization is associated with alterations in the mineral composition of dental enamel, which can be evaluated using Raman spectroscopy. **Objective:** To compare phosphate concentration between healthy enamel and hypomineralized enamel using Raman spectroscopy as an analytical method. **Methods:** Sixteen extracted teeth with lesions consistent with molar hypomineralization were analyzed, selected according to inclusion and exclusion criteria. In each sample, healthy and hypomineralized areas were identified, and Raman spectra were obtained to determine the intensity of the peak corresponding to the phosphate ion. **Results:** The spectral intensity of the phosphate ion was consistently lower in hypomineralized areas compared to healthy ones. Analysis of variance (ANOVA) revealed statistically significant differences among clinical groups based on lesion color ( $p < 0.05$ ). **Conclusions:** A significant decrease in phosphate concentration was observed in hypomineralized enamel, especially in lesions with greater clinical severity, which may be related to their increased fragility and susceptibility to fracture and caries progression.

**Key words:** hypomineralization, Raman spectroscopy, hydroxyapatite, dental enamel.

### Introdução

A hipomineralização molar-incisiva (HMI), também denominada hipomineralização molar (HM), é um defeito qualitativo do esmalte dentário caracterizado por opacidades bem delimitadas que afetam principalmente molares e incisivos permanentes, embora outros dentes permanentes e decíduos também possam estar envolvidos. A afetação simultânea de ambos os tipos dentários representa a forma mais severa do distúrbio; entretanto, quando as opacidades estão restritas aos incisivos, sem envolvimento de um ou mais primeiros molares permanentes, não se considera HM propriamente dita<sup>1,2</sup>.

Atualmente, a HM é descrita como um defeito de origem sistêmica e etiologia multifatorial, que compromete de um a quatro primeiros molares permanentes. Essa alteração está associada a modificações na disposição dos cristais de

hidroxiapatita, atribuídas à maior retenção de proteínas como albumina sérica e colágeno tipo I, interferindo no processo normal de mineralização durante a fase de maturação do esmalte<sup>3,4</sup>. Clinicamente, o esmalte afetado apresenta opacidades de coloração branca, creme, amarela ou marrom e, nos casos mais severos, pode ocorrer fratura pós-eruptiva do esmalte.

A severidade clínica da HM é variável, podendo variar de lesões leves até casos complexos com fratura do esmalte, hipersensibilidade, restaurações atípicas e desenvolvimento acelerado de cárie dentária. Essas alterações comprometem significativamente a estrutura coronária<sup>2,5</sup>. Em nível histoquímico, o esmalte afetado pela HM apresenta densidade mineral até 19% inferior ao esmalte saudável, com redução nos níveis de cálcio e fósforo e conteúdo proteico até 21 vezes maior<sup>6</sup>.

Esse tipo de defeito tem se tornado cada vez mais frequente na prática clínica,

representando um desafio particular para o odontopediatra, uma vez que as manifestações ocorrem em idades precoces<sup>2</sup>. Sua prevalência global varia amplamente, entre 2,4% e 40,2%, tanto na dentição permanente quanto na decídua<sup>7</sup>.

Pesquisas recentes identificaram até cinco fenótipos distintos de hipomineralização, e foi proposto um novo termo: hipomineralização de outros dentes permanentes (HOPT), que inclui pré-molares e possivelmente compartilha etiologia com a HM e a HMI<sup>8,9</sup>. Apesar de mais de duas décadas de investigação, a etiologia exata da HM ainda não é completamente compreendida, reforçando sua caracterização como um problema de saúde pública e justificando a necessidade de pesquisas contínuas sobre seus fatores de risco, impacto na qualidade de vida e manejo clínico<sup>10</sup>.

Nesse contexto, a espectroscopia Raman emergiu como uma técnica altamente eficaz e não destrutiva para análise de tecidos biológicos, incluindo o esmalte dentário. Essa técnica vibracional permite obter informações estruturais e químicas precisas, atuando como uma “impressão digital molecular” para identificação de compostos orgânicos e inorgânicos<sup>11</sup>. Diversos estudos utilizaram a espectroscopia Raman para investigar defeitos estruturais no esmalte afetado por HM, analisando especialmente a concentração do íon fosfato ( $\nu_1$ ), componente fundamental da hidroxiapatita<sup>12-15</sup>.

Os achados indicam que o conteúdo inorgânico de fosfato em dentes com HM é inferior quando comparado ao esmalte saudável, influenciando a resposta ao condicionamento ácido e a adesão de materiais restauradores. Essa menor mineralização está associada ao maior conteúdo proteico e à desorganização dos cristais de hidroxiapatita, comprometendo a integridade estrutural do tecido<sup>16</sup>.

O presente estudo analisou a concentração de fosfatos em esmalte dentário saudável e em esmalte hipomineralizado com diferentes manifestações clínicas (branco, creme, amarelo e marrom), por meio da espectroscopia Raman. O objetivo foi comparar o conteúdo do íon fosfato entre ambas as condições e avaliar as diferenças conforme a coloração clínica das lesões.

## **Materiais e Métodos**

### **Delineamento do Estudo e Aspectos Éticos**

Este estudo experimental *in vitro* foi conduzido no Laboratório de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade da Costa Rica (UCR). Por se tratar de uma pesquisa que utilizou dentes extraídos classificados como resíduos anatomopatológicos, não foi necessária a submissão do projeto ao Comitê Ético Científico (CEC) da UCR.

A amostra foi composta por 16 dentes permanentes humanos extraídos, coletados nas clínicas odontológicas da Faculdade de Odontologia. Todos os pacientes adultos,

pais ou responsáveis legais assinaram previamente um termo de consentimento informado autorizando o uso posterior dos dentes extraídos para fins didáticos ou de pesquisa. Os dentes selecionados não continham informações identificáveis, e sua extração não esteve relacionada a esta investigação.

### **Critérios de Inclusão**

- Dentes permanentes unirradiculares ou multirradiculares com diagnóstico clínico de hipomineralização molar (HM).
- Superfícies coronárias com opacidades bem delimitadas nas cores branca, creme, amarela ou marrom, ou com fratura pós-eruptiva.
- Dentes permanentes com restaurações atípicas que preservassem áreas hipomineralizadas.
- Lesões localizadas no terço médio da coroa ou nas cúspides oclusais.
- Presença de fraturas pós-eruptivas associadas a opacidades.
- Dentes com destruição estrutural que ainda conservassem áreas hipomineralizadas identificáveis.
- Dentes adequadamente preservados para análise.

### **Critérios de Exclusão**

- Dentes fraturados sem evidência de hipomineralização.
- Restaurações atípicas que não envolvessem esmalte hipomineralizado.

- Lesões cariosas cavitadas sem margens de esmalte hipomineralizado.
- Defeitos de esmalte associados a etiologias distintas da HM.

Foram selecionados 16 dentes que atenderam aos critérios estabelecidos, sendo excluídas seis amostras por apresentarem diagnóstico diferente de HM, como fluorose, restaurações sem áreas de HM ou cárie cavitada.

As amostras foram higienizadas com escova, água e dispositivo ultrassônico (cavitron), e posteriormente armazenadas em frascos de vidro contendo água destilada a 20 °C até a realização da análise.

Cada molar foi classificado de acordo com a coloração clínica da lesão em três categorias, seguindo os critérios da European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD):

- Branco/creme
- Amarelo/marrom
- Fratura pós-eruptiva associada à HM

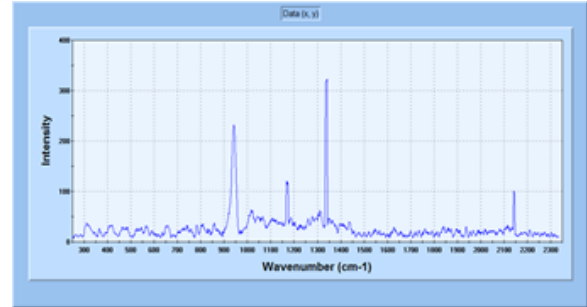
### **Análise Espectroscópica**

#### **Aquisição do Espectro Raman**

A análise foi realizada utilizando um microscópio confocal Raman (WiTec, modelo PRO-L7A2S-10; Figura 1), equipado com laser de 785 nm e potência de 100 mW. O tamanho do ponto de medição foi de aproximadamente 1–2 µm, utilizando objetiva de 40×. Cada espectro foi obtido com tempo de integração de 0,5 segundos por varredura.



**Figura 1.** Microscópio confocal Raman (marca: WiTec, modelo: PRO-L7A2S-10).



**Figura 2.** Espectro obtido de uma amostra.

Antes das medições, o equipamento foi calibrado, e as amostras foram secas para evitar interferência por fluorescência da água (dispersão de Rayleigh). Cada dente foi fixado com cera em um suporte apropriado para amostras.

Foram realizadas medições tanto na área hipomineralizada quanto em uma área de esmalte visualmente saudável do mesmo dente, que serviu como controle interno. As condições ambientais foram mantidas a 26 °C.

### Pré-processamento dos Dados

Os dados espectrais foram visualizados e processados utilizando o software Spectragryph® versão 1.2.16 (Dr. Friedrich Menges), que permite obter valores de energia (eixo x), intensidade (eixo y) e área sob a curva dos picos espectrais.

Os ajustes aplicados incluíram correção de linha de base, suavização e remoção de pontos atípicos (Figura 2).

Os picos do fosfato  $\nu_1$  ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), característicos do componente mineral inorgânico (hidroxiapatita), foram identificados principalmente na região espectral entre 958 e 960  $\text{cm}^{-1}$ . Para avaliar a cristalinidade do esmalte, foi calculada a razão 960/1070  $\text{cm}^{-1}$ .

### Análise Estatística

Os dados foram tabulados no Microsoft Excel e analisados utilizando o software SPSS versão 28.0.

Antes da aplicação de testes inferenciais, a normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk.

- Para comparar os valores de fosfato entre esmalte saudável e hipomineralizado, foi utilizado o teste t de Student para amostras pareadas.
- Para comparar as concentrações de fosfato de acordo com a coloração clínica da lesão, foi aplicada análise de variância (ANOVA) de um fator.

O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ . Quando os pressupostos de normalidade não foram atendidos, considerou-se a utilização de testes não paramétricos.

### Resultados

Foram analisadas 16 amostras dentárias permanentes que atenderam aos critérios de inclusão. Seis dentes foram excluídos por apresentarem fluorose, cárie cavitada ou restaurações sem

áreas hipomineralizadas. A avaliação foi realizada por meio de espectroscopia Raman, com foco na intensidade do pico espectral do íon fosfato v1 ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), como indicador do conteúdo mineral do esmalte dentário.

### Comparação entre esmalte saudável e hipomineralizado

Cada dente foi avaliado em duas áreas: uma clinicamente e visualmente saudável (esmalte controle) e outra com evidência de hipomineralização. Os resultados da intensidade espectral média do íon fosfato para cada amostra estão apresentados na Tabela 1.

De modo geral, a intensidade espectral média do íon fosfato no esmalte saudável foi de  $113,98 \text{ cm}^{-1}$ , enquanto nas áreas hipomineralizadas reduziu para  $44,44 \text{ cm}^{-1}$ , representando uma redução média de 61% no sinal associado ao conteúdo mineral.

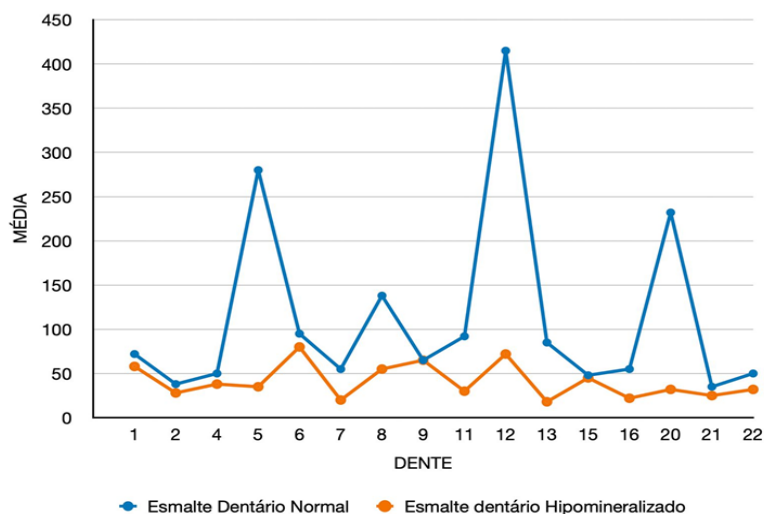
Essa diminuição é consistente com a perda mineral observada clinicamente em lesões hipomineralizadas e pode ser visualizada

**Tabela 1.** Intensidade espectral média ( $\text{cm}^{-1}$ ) do íon fosfato em esmalte saudável e hipomineralizado.

Amostra	Esmalte saudável	Esmalte hipomineralizado
1	78,42	64,34
2	42,14	33,40
4	52,73	41,85
5	242,30	39,07
6	103,00	85,43
7	61,22	22,22
8	147,80	59,26
9	70,41	69,32
11	98,68	33,59
12	412,10	79,27
13	87,82	18,83
15	50,09	46,45
16	58,71	24,43
20	230,60	34,09
21	35,83	26,03
22	51,87	33,56

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos por espectroscopia Raman.

claramente na Figura 3, na qual a maioria das amostras apresenta redução acentuada



**Figura 3.** Intensidade espectral média de fósforos em esmalte saudável e hipomineralizado por amostra dentária.

na intensidade espectral do íon fosfato nas áreas afetadas.

Para determinar a significância estatística dessa diferença, foi aplicado o teste t de Student para amostras pareadas, que resultou em uma diferença média de  $69,53 \text{ cm}^{-1}$  ( $p = 0,10$ ). Embora esse valor não tenha atingido o nível convencional de significância estatística ( $\alpha = 0,05$ ), a magnitude da redução observada sugere uma tendência clinicamente relevante. Esses achados reforçam a necessidade de estudos com amostras maiores para validar os resultados e explorar suas implicações diagnósticas e terapêuticas.

### Comparação segundo a coloração clínica do esmalte hipomineralizado

As áreas de esmalte hipomineralizado foram classificadas em três categorias clínicas com base no aspecto visual: branco-creme, amarelo-marrom e marrom com perda estrutural. Para cada grupo, foi calculado o percentual médio de redução na intensidade espectral do íon fosfato (v1), em comparação com as áreas

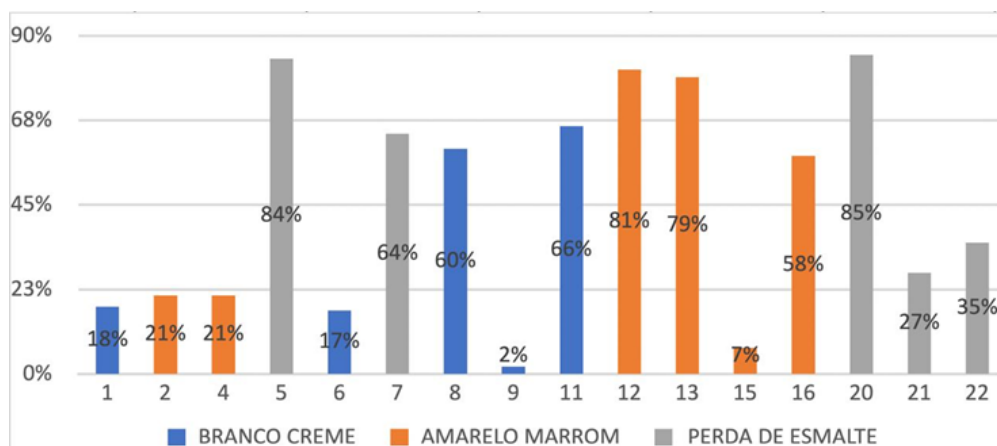
**Tabela 2.** Percentual médio de redução de fosfatos segundo a coloração clínica.

Grupo clínico	Redução média (%)
Marrom com perda estrutural	85%
Amarelo-marrom	81%
Branco-creme	66%

correspondentes de esmalte saudável. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Esses resultados sugerem uma relação direta entre a severidade clínica do defeito e a magnitude da perda mineral, sendo maior nas lesões mais escuras ou com comprometimento estrutural. Essa tendência pode ser observada na Figura 4, onde o percentual de redução aumenta conforme a severidade clínica do defeito.

Para avaliar se essas diferenças eram estatisticamente significativas, foi realizada uma análise de variância (ANOVA), cujos resultados estão apresentados na Tabela 3.



**Figura 4.** Percentual de redução de fosfatos segundo a coloração clínica do esmalte hipomineralizado.

**Tabela 3.** Resultados da ANOVA da intensidade espectral segundo os grupos clínicos.

Grupo	Soma de quadrados	gl	Média quadrática	F	p-valor
Esmalte saudável	1628.91	2	814.46	0.07	0.933
Esmalte hipomineralizado	2598.33	2	1299.16	4.31	0.037*

\*  $p < 0,05$  indica diferença estatisticamente significativa.

A análise demonstrou que as diferenças entre as categorias clínicas foram estatisticamente significativas apenas nas áreas de esmalte hipomineralizado ( $p = 0,037$ ), enquanto no esmalte saudável não foram observadas diferenças significativas ( $p = 0,933$ ).

### Comparações específicas entre grupos clínicos

Para aprofundar a análise da relação entre a coloração clínica do esmalte hipomineralizado e seu conteúdo mineral, foram realizadas comparações por pares

**Tabela 4.** Comparação entre branco-creme e amarelo-marrom.

Grupo	Média	Desvio padrão	N
Saudável - Branco-creme	99.66	30.15	5
Saudável - Amarelo-marrom	117.27	145.29	6
Hipomineralizado - Branco-creme	62.39	18.65	6
Hipomineralizado - Amarelo-marrom	40.71	21.53	6

**Tabela 5.** Comparação entre branco-creme e perda estrutural.

Grupo	Média	Desvio padrão	N
Saudável - Branco-creme	94.63	30.15	5
Saudável - Perda estrutural	124.36	102.8	5
Hipomineralizado - Branco-creme	62.39	18.65	5
Hipomineralizado - Perda estrutural	30.99	6.76	5

**Tabela 6.** Comparação entre amarelo-marrom e perda estrutural.

Grupo	Média	Desvio padrão	N
Saudável - Amarelo-marrom	117.27	145.29	6
Saudável - Perda estrutural	124.36	102.8	5
Hipomineralizado - Amarelo-marrom	40.71	21.53	5
Hipomineralizado - Perda estrutural	30.99	6.76	5

entre os três grupos clínicos: branco-creme, amarelo-marrom e perda estrutural. Em cada comparação, as intensidades espectrais do íon fosfato foram analisadas tanto nas áreas saudáveis quanto nas hipomineralizadas.

Os resultados evidenciam que, nas áreas hipomineralizadas, a intensidade espectral do íon fosfato diminui progressivamente conforme aumenta a severidade clínica do defeito. O esmalte branco-creme apresentou níveis intermediários de fosfato, as lesões amarelo-marrom mostraram redução mais acentuada e as áreas com perda estrutural apresentaram os valores mais baixos registrados. Essa gradiente manteve-se evidente mesmo quando comparada às áreas saudáveis correspondentes.

### Síntese dos resultados

Os achados confirmam que o conteúdo mineral do esmalte, medido por meio da intensidade espectral do íon fosfato  $\nu_1$ , é menor nas áreas hipomineralizadas em comparação ao esmalte saudável. Embora a redução global (61%) não tenha alcançado significância estatística ( $p = 0,10$ ), sua magnitude sugere possível relevância clínica, especialmente no contexto diagnóstico, preventivo e restaurador.

A análise por subgrupos revelou diferenças estatisticamente significativas na intensidade espectral do fosfato segundo a coloração clínica ( $p = 0,037$ ), indicando que o aspecto clínico pode refletir o grau subjacente de hipomineralização.

As comparações por pares reforçam essa interpretação, demonstrando que as lesões marrom com perda estrutural foram as mais severamente desmineralizadas, seguidas pelas amarelo-marrom e, por último, pelas branco-creme.

### Discussão

O principal componente mineral do esmalte dentário é a hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , cuja fase inorgânica é predominantemente composta por íons fosfato. No presente estudo, a espectroscopia Raman foi utilizada para quantificar a intensidade do pico espectral  $\nu_1$  do íon fosfato (aproximadamente  $960\text{ cm}^{-1}$ ), como indicador do grau de mineralização do esmalte. Os resultados demonstraram que o conteúdo de fosfato no esmalte hipomineralizado (HM) foi consideravelmente menor em comparação ao esmalte saudável, corroborando achados prévios sobre alterações estruturais desse tecido <sup>16</sup>.

De modo geral, observou-se uma redução média de 61% na intensidade do sinal de fosfato nas áreas hipomineralizadas, sendo mais acentuada nas lesões clinicamente mais severas, especialmente aquelas classificadas como marrom com perda estrutural. Essa tendência está de acordo com os resultados de Fraser et al., que identificaram uma associação entre a severidade da coloração clínica e o grau de comprometimento do esmalte<sup>15</sup>, bem como com os achados de Cerdas et al., que documentaram maior comprometimento estrutural em lesões de coloração marrom em dentes permanentes com HM<sup>17</sup>.

Estudos anteriores descrevem o esmalte com HM como mais poroso, com retenção anormal de proteínas, como albumina sérica e colágeno tipo I, além de organização prismática irregular<sup>18,19</sup>. Essas alterações microestruturais explicam sua menor resistência mecânica e maior suscetibilidade à fratura pós-eruptiva. No presente estudo, as lesões marrom com perda estrutural apresentaram as menores concentrações de fosfato, seguidas pelas lesões amarelo-marrom e branco-creme. Essa gradação foi estatisticamente significativa na análise ANOVA ( $p = 0,037$ ), reforçando a hipótese de que a coloração clínica pode atuar como indicador da qualidade estrutural do esmalte.

Do ponto de vista clínico, a redução no conteúdo de fosfato apresenta implicações relevantes. A menor mineralização e o aumento da porosidade comprometem a resposta do esmalte com HM ao condicionamento ácido e reduzem a adesão de materiais restauradores<sup>20,21</sup>. Estudos recentes relatam menores taxas de sucesso clínico de restaurações adesivas em esmalte hipomineralizado,

especialmente quando não são utilizados sistemas adesivos otimizados ou técnicas específicas de infiltração<sup>23-25</sup>.

O presente estudo contribui para o entendimento da composição química do esmalte com HM por meio de uma técnica não destrutiva como a espectroscopia Raman. Essa ferramenta permite a análise dos tecidos sem alterar sua estrutura, conforme também destacado por González-Solís et al. e Zepeda-Zepeda et al., que validaram sua utilidade no diagnóstico de defeitos do esmalte, como a fluorose<sup>26,27</sup>. Além disso, a espectroscopia Raman tem demonstrado eficácia na análise da estrutura química na junção amelodentinária e na caracterização dos padrões de cristalização do esmalte<sup>28</sup>.

O menor conteúdo de fosfato observado no esmalte com HM tem sido associado à maior retenção de proteínas, incluindo carbonato e albumina, o que pode favorecer a colonização bacteriana e a progressão da cárie<sup>18,19,29</sup>. Esses achados reforçam a importância da identificação precoce das lesões de HM para implementação de protocolos preventivos mais eficazes, particularmente em crianças com maior risco.

A análise espectral realizada confirmou, em concordância com a literatura, que o pico  $\nu_1$  do íon fosfato em torno de  $960 \text{ cm}^{-1}$  correlaciona-se diretamente com a concentração de cristais de hidroxiapatita<sup>14</sup>. Essa relação permite diferenciar esmalte saudável de esmalte afetado e até discriminar distintos graus de severidade clínica com base na coloração da lesão, representando uma oportunidade para o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais precisos e minimamente invasivos.

Atualmente, há escassez de literatura na América Latina que documente de forma aprofundada a composição mineral do esmalte com HME e suas implicações clínicas. Estudos como o de Natarajan et al. (2015)<sup>30</sup> demonstram o potencial dessa linha de pesquisa; entretanto, são necessários mais trabalhos que investiguem essas características em diferentes populações e contextos clínicos.

Este estudo reforça a utilidade clínica da espectroscopia Raman como ferramenta para caracterizar a hipomineralização do esmalte dentário. Os resultados obtidos incentivam a realização de pesquisas futuras com amostras mais amplas, a fim de validar a relação entre o aspecto clínico das lesões, sua composição química e o desempenho restaurador. O aprofundamento no conhecimento das limitações estruturais do esmalte hipomineralizado pode abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de materiais e técnicas adaptadas a esses defeitos, com o objetivo final de melhorar a qualidade de vida dos pacientes afetados.

É importante reconhecer as limitações metodológicas deste estudo, especialmente o tamanho amostral ( $n = 16$ ), que pode ter contribuído para que a diferença global na concentração de fosfatos (redução de 61%) não alcançasse significância estatística. Por se tratar de uma investigação *in vitro*, os resultados refletem a composição química estática do esmalte extraído e não contemplam a complexidade dinâmica do ambiente oral, como a influência salivar ou a progressão do defeito *in vivo*. Estudos futuros devem incluir amostras maiores e complementar a análise química com testes mecânicos diretos (por exemplo, microdureza), a fim de correlacionar

quantitativamente a redução de fosfatos com a fragilidade clínica inferida.

## Conclusão

Este estudo demonstrou, por meio da espectroscopia Raman, uma redução expressiva na concentração de fosfatos no esmalte hipomineralizado em comparação ao esmalte saudável. A diminuição foi mais acentuada nas lesões clinicamente mais severas, particularmente naquelas classificadas como marrom com perda estrutural, enquanto as lesões branco-creme apresentaram alterações minerais menos pronunciadas. Esses achados sugerem que a coloração clínica pode atuar como indicador do grau de desmineralização e, conseqüentemente, da fragilidade do esmalte.

A espectroscopia Raman demonstrou ser uma ferramenta útil, não invasiva e precisa para a análise química do esmalte dentário, ampliando as possibilidades de aplicação tanto na prática clínica quanto na pesquisa. Por fim, os resultados reforçam a necessidade de desenvolver protocolos restauradores específicos para o manejo do esmalte hipomineralizado, considerando suas particularidades estruturais e seu comportamento clínico diferenciado.

## Conflitos de Interesse e Financiamento

Os autores declaram não haver conflitos de interesse nem financiamento externo relacionado aos resultados apresentados neste estudo.

## Referências

1. Weerheijm KL, Jälevik B, Alaluusua S. Molar-incisor hypomineralisation. *Caries Res.* 2001;35(5):390–391.
2. Ghanim A, Silva MJ, Elfrink ME, Lygidakis NA, Mariño R, Weerheijm KL, Manton DJ. Molar incisor hypomineralisation (MIH) training manual for clinical field surveys and practice. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2017;18(4):225–242.
3. Farah RA, Monk BC, Swain MV, Drummond BK. Protein content of molar–incisor hypomineralisation enamel. *J Dent.* 2010;38(7):591–596.
4. Mahoney EK, Rohanzadeh R. Crystallite size of dental enamel affected by molar–incisor hypomineralisation (MIH). *J Dent Res.* 2012;91(Spec Iss A):3402.
5. Guzmán G, Aguilera FS, Velásquez LM, et al. Aplicación de espectroscopía Raman para el análisis de defectos del esmalte. *Rev Mex Cienc Odontol.* 2020;9(3):123–130.
6. Mangum JE, Crombie FA, Kilpatrick N, Manton DJ, Hubbard MJ. Surface integrity governs the proteome of hypomineralized enamel. *J Dent Res.* 2010;89(10):1160–1165.
7. Zhao D, Dong B, Yu D, Ren Q, Sun Y. The prevalence of molar incisor hypomineralization: Evidence from 70 studies. *Int J Paediatr Dent.* 2018;28(2):170–179.
8. Ghanim A, Morgan M, Marino R, Bailey D, Manton D. Risk factors of hypomineralised second primary molars. *J Dent.* 2013;41(7):546–552.
9. Jeremias F, Koruyucu M, Küchler EC, et al. Genes expressed in dental enamel development are associated with molar-incisor hypomineralization. *Arch Oral Biol.* 2013;58(10):1434–1442.
10. Fagrell TG, Ludvigsson J, Ullbro C, Lundin SA, Koch G. Aetiology of molar-incisor hypomineralizations: a systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011;12(2):53–58.
11. Deliormanlı AM. Raman spectroscopy for biomedical applications. In: Akyıldız FT, Ed. *Spectroscopy in Life Sciences.* IntechOpen; 2020.
12. Zhang H, Darvell BW. Morphology and structure of tooth enamel. *Biomaterials.* 2010;31(20):5238–5244.
13. Liu X, Wang Y. Raman spectroscopy study of enamel demineralization and remineralization. *J Dent.* 2010;38(9):732–739.
14. Cury JA, Tenuta LMA. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009;23(Suppl 1):23–30.
15. Fraser D, Deery C, Fung DE, et al. Managing molar incisor hypomineralisation: a survey of UK general dental practitioners. *Br Dent J.* 2012;213(8):E12.
16. Crombie FA, Manton DJ, Palamara JE, Zalizniak I, Cochrane NJ, Reynolds EC. Characterisation of developmentally hypomineralised human enamel. *J Dent.* 2013;41(7):611–618.
17. Cerdas-Ureña, K., & Gómez-Fernández, A. (2020). Relación entre el color clínico de opacidades y la pérdida de estructura dental en primeros molares permanentes con hipomineralización molar incisiva. *Odontos,* 22(36), 54–66. <https://doi.org/10.15517/odontos.v22i36.40975>
18. Elfrink ME, ten Cate JM, Jaddoe VW, Hofman A, Moll HA, Veerkamp JS. Deciduous molar hypomineralisation and molar incisor hypomineralisation. *J Dent Res.* 2012;91(6):551–555.
19. Hubbard MJ, Mangum JE, Perez VA, Nervo GJ, Hall RK. Molar Hypomineralisation: A Call to Arms for Enamel Researchers. *Front Physiol.* 2017;8:546. Published 2017 Aug 3. doi:10.3389/fphys.2017.00546
20. William V, Messer LB, Burrow MF. Molar incisor hypomineralization: review and recommendations for clinical management. *Pediatr Dent.* 2006;28(3):224–232.
21. Fragelli CM, Jeremias F, Feltrin J, et al. Longitudinal evaluation of the structural integrity of dental enamel in children with molar incisor hypomineralisation: a prospective study. *Int J Paediatr Dent.* 2015;25(4):303–308.
22. Gutiérrez-Salazar MP, Acosta-Gío AE. Spectroscopic study of the inorganic composition of dental enamel affected by MIH. *J Mater Sci Mater Med.* 2011;22(2):347–352.
23. Weber KR, Wierichs RJ, Meyer-Lueckel H, Flury S. Restoration of teeth affected by molar-incisor hypomineralisation: a systematic review. *Swiss Dent J.* 2021;131(12):988–997. doi:10.61872/sdj-2021-12-764
24. Denis R, Marty M, Esclassan R, Noirrit-Esclassan E, Canceill T. Description and Durability of the Various Direct Restoration Techniques in Molar-Incisor Hypomineralization: A Systematic Review. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2025;33(1):113–122. Published 2025 Feb 28. doi:10.1922/EJPRD\_2760Denis10
25. de Souza JF, Fragelli CB, Jeremias F, Paschoal MAB, Santos-Pinto L, de Cássia Loiola Cordeiro R. Eighteen-month clinical performance of composite resin restorations with two different adhesive systems for molars affected by molar incisor hypomineralization. *Clin Oral Investig.* 2017;21(5):1725–1733. doi:10.1007/s00784-016-1968-z

26. Zepeda-Zepeda MA, Picquart M, Irigoyen-Camacho ME, Mejía-Gómez AM. Diagnosis of Dental Fluorosis Using Micro-Raman Spectroscopy Applying a Principal Component-Linear Discriminant Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(20):10572. Published 2021 Oct 9. doi:10.3390/ijerph182010572
27. González-Solís JL, Martínez-Cano E, Magaña-López Y. Early detection of dental fluorosis using Raman spectroscopy and principal component analysis. *Lasers Med Sci*. 2015;30(6):1675-1681. doi:10.1007/s10103-014-1638-9
28. Xu C, Yao X, Walker MP, Wang Y. Chemical/molecular structure of the dentin–enamel junction is dependent on the intratooth location. *Calcif Tissue Int*. 2009;84(3):221–228. doi:10.1007/s00223-008-9212-8
29. Inchingolo AM, Inchingolo AD, Viapiano F, et al. Treatment Approaches to Molar Incisor Hypomineralization: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2023;12(22):7194. Published 2023 Nov 20. doi:10.3390/jcm12227194
30. Natarajan AK, Fraser SJ, Swain MV, Drummond BK, Gordon KC. Raman spectroscopic characterisation of resin-infiltrated hypomineralised enamel. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(19):5661-5671. doi:10.1007/s00216-015-8742-y

---

Recibido 27/10/23

Aceptado 15/12/25

Correspondencia: Joseph Ulate Jiménez, correo: joseph.ulate@ucr.ac.cr