SAMIRA HELENA JOÃO DE SOUZA

**Análise da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com
laser de Nd:YAG e flúor**

São Paulo

2014

SAMIRA HELENA JOÃO DE SOUZA

**Análise da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com
laser de Nd:YAG e flúor**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

João-Souza, Samira Helena.

Análise da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com laser de Nd:YAG e flúor / Samira Helena João de Souza ; orientador Ana Cecília Corrêa Aranha. -- São Paulo, 2014.

105p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Erosão de dente. 2. Dentina. 3. Laser. 4. Flúor. 5. Sensibilidade da dentina. I. Aranha, Ana Cecília Corrêa. II. Título.

João-Souza SH. Análise da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com laser de Nd:YAG e flúor. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /2014

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

À Deus, meu Pai protetor, que sempre ilumina meus caminhos e me dá forças em todos os momentos.

Aos meus pais queridos, Nivaldo e Stela, minha fonte de inspiração. Muito obrigada por todo apoio que vocês sempre me dão e por me ensinarem a ser a pessoa que sou hoje. Não tenho como descrever o quão importante vocês são para mim. Sem vocês eu não teria chegado aonde estou hoje. Amo vocês.

À toda minha família pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

Ao Henrique, meu querido amigo, que esteve sempre comigo, me apoiando e me incentivando. Obrigada, pela paciência, companheirismo e por toda a ajuda que sempre me deu.

À minha orientadora Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha,
meus sinceros agradecimentos, não só pela orientação deste trabalho, mas também
por todos os conhecimentos a mim transmitidos, não só profissional como pessoal.
Agradeço pela atenção, dedicação, exemplo, amizade e carinho, por me apoiar e me
incentivar em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, representada pelo seu diretor Prof. Dr. Waldyr Antonio Jorge.

À Profa. Dra. Márcia Martins Marques, chefe do Departamento de Dentística da FOUSP e coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística.

À todos os professores do Departamento de Dentística da FOUSP, pelos ensinamentos e agradável convivência.

Ao Prof. Dr. Michel Nicolau Youssef, meu orientador de iniciação científica, obrigada pelo apoio e incentivo a continuar nessa área de ensino e pesquisa.

À Profa. Dra. Taís Scaramucci, pelo carinho, amizade e companheirismo desde o momento em que nos conhecemos. Obrigada pela ajuda que me deu em Indianápolis e por estar aqui sempre presente.

Ao Prof. Dr. Anderson Takeo Hara, da Faculdade de Odontologia da Universidade de Indiana (IUSD-IUPUI), por ter me recebido em seu laboratório e pelo apoio, disponibilidade, orientação e colaboração neste trabalho.

À Profa. Dra. Cecília Pedroso Turssi, obrigada pelo apoio, colaboração e realização da análise estatística deste trabalho.

À todos os funcionários da FOUSP que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho, em especial aos funcionários do Departamento de Dentística, Davi, Soninha, Selma, Arnaldo, Aldo, Débora e Leandro. Como também ao Douglas, do Departamento de Biomateriais e Biologia Oral e às funcionárias do LELO, Lili, Gê, Elaine, Leni e Ana, pela ajuda e atenção sempre.

Aos funcionários do Oral Health Institute (Universidade de Indiana) Adam, Joseph e Sharon, pelo auxílio e colaboração.

Às bibliotecárias Glauci e Maria Cláudia, pelo auxílio nas correções e formatação desta dissertação.

À todos meus amigos da Pós-Graduação, pela convivência e companhia agradável de todos os dias.

Às minhas queridas amigas, Andréa e Taís, por todos os momentos de companheirismo, compreensão, apoio, carinho e incentivo. Esses dois anos de mestrado foram muito mais fáceis e alegres com vocês ao meu lado. Obrigada por estarem sempre comigo.

À Diana e Sandra, queridas amigas desde a graduação, que continuam comigo, me apoiando e me incentivando. Obrigada pelo carinho, amizade e ótimos momentos juntas.

À Sabrina, Laila, Marília, Oriana e Rawan, pela amizade e companheirismo. Adorei conhecê-las e obrigada por tornar minha estadia em Indianópolis mais agradável e feliz.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida (2012/20632-9) e pelo auxílio à pesquisa que possibilitou a compra do Perfilômetro Óptico (2011/17699-1).

Agradeço à todos que torceram por mim e que me ajudaram de alguma forma a conquistar mais esta etapa da minha vida!

Obrigada!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

João-Souza SH. Análise da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com laser de Nd:YAG e flúor [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Corrigida.

Devido à alta prevalência da erosão dental, esse trabalho tem por objetivo avaliar diferentes protocolos do laser de Nd:YAG e flúor na progressão de lesões de erosão em dentina. Para isso, o trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira, foram utilizados 120 terceiros molares humanos que tiveram sua dentina exposta e incluída em resina acrílica. Após polimento, as amostras com curvatura de até 0,3 μm foram selecionadas. Estas ficaram 10 minutos em ácido cítrico 1% (pH 2,3) para formação de lesão de erosão inicial e então, foram divididas em 8 grupos experimentais (n=15): Controle (sem tratamento), Flúor (gel de fluoreto de sódio neutro 2%), Nd:YAG1 (0,5W; 50mJ; $\sim 41,66\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; em contato), Nd:YAG2 (0,70W; 70mJ; $\sim 62,50\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; em contato), Nd:YAG3 (1,0W; 100mJ; $\sim 54,16\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm desfocado), Flúor+Nd:YAG1, Flúor+Nd:YAG2 e Flúor+Nd:YAG3. Para verificar a perda de superfície ocorrida, foram feitas leituras em perfilômetro óptico nos seguintes tempos: após formação da lesão inicial, logo após tratamentos e após 1º, 3º e 5º dias de ciclagem erosiva. Para a segunda etapa, foram utilizadas 93 dentinas extraídas de terceiros molares humanos, as quais também foram incluídas em resina acrílica e polidas. Das amostras obtidas, foram selecionadas 60 com curvatura adequada para as análises perfilométricas, nos mesmos tempos descritos anteriormente. As outras 33 amostras foram utilizadas para análise em microscopia eletrônica de varredura, nos tempos pós-lesão inicial, pós-tratamento e ao final dos cinco dias de ciclagem erosiva. Após formação da lesão inicial, elas foram divididas em 6 grupos experimentais: Controle (nenhum tratamento), Flúor (gel de fluoreto de sódio neutro 2%), Nd:YAG1 (0,5W; 50mJ; $\sim 26,6\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm desfocado), Nd:YAG2 (0,7W; 70mJ; $\sim 37,5\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm desfocado), Flúor+Nd:YAG1 e Flúor+Nd:YAG2. Os dados resultantes das análises perfilométricas foram submetidos à análise estatística, sendo as duas etapas independentes. Significância estatística foi de 5%. Na primeira etapa, os grupos apresentaram diferença significativa em todos os tempos analisados ($p < 0,001$), exceto após lesão inicial. Houve perda superficial após

irradiação com todos os protocolos do laser de Nd:YAG. A associação do flúor com o laser não diferiu significativamente do laser isoladamente. O grupo Flúor apresentou os menores valores de perda de superfície e os grupos Nd:YAG2 e Flúor+Nd:YAG2 apresentaram os maiores valores, não havendo diferença entre eles. Na segunda etapa, os grupos também apresentaram diferença significativa em todos os tempos ($p=0,001$). Os grupos Flúor e Flúor+Nd:YAG1, após o primeiro dia de ciclagem, tiveram menor perda de superfície que os outros grupos. Nos outros tempos, os grupos Flúor, Flúor+Nd:YAG1 e Flúor+Nd:YAG2, tiveram menor perda de superfície que o grupo Controle e este não foi diferente dos grupos apenas irradiados com o laser, independente do protocolo. As micrografias foram analisadas qualitativamente e mostraram que o laser nos parâmetros utilizados não foi capaz de obliterar os túbulos dentinários, porém, reduziu o diâmetro dos mesmos. Dentro das limitações de um estudo *in vitro*, pode-se concluir que o flúor tem papel protetor na progressão da erosão dental e que o laser de Nd:YAG, quando utilizado dentro dos parâmetros adequados, pode ser eficaz no tratamento da erosão dental.

Palavras-chave: Erosão dental. Dentina. Laser. Flúor.

ABSTRACT

João-Souza SH. Analysis of the progression of dentine erosion after Nd:YAG irradiation and fluoride [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Corrigida.

Due to the high prevalence of dental erosion, this study aimed to evaluate the progression of dentin erosion after treatment with different protocols of the Nd:YAG laser and fluoride. Thus, this study was divided into two phases. In the first phase, 120 human third molars had their dentin exposed and embedded in acrylic resin. After polishing, specimens with curvature of maximum 0.3 μm were selected. They were immersed in 1% citric acid (pH 2.3) for 10 minutes to form initial erosion lesion and then they were divided into 8 experimental groups (n=15): Control (no treatment), Fluoride (neutral sodium fluoride gel 2%), Nd:YAG1 (0,5W; 50mJ; $\sim 41,66\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; contact), Nd:YAG2 (0,70W; 70mJ; $\sim 62,50\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; contact), Nd:YAG3 (1,0W; 100mJ; $\sim 54,16\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm defocused), Fluoride+Nd:YAG1, Fluoride+Nd:YAG2 and Fluoride+Nd:YAG3. Surface loss was evaluated by optical profilometry after initial lesion, right after treatments, and after 1st, 3rd and 5th erosion cycling days. For the second phase, 93 dentin specimens were obtained from human third molars. They were also embedded in acrylic resin and polished. From those specimens, 60 with adequate curvature were selected for the profilometer analysis, which were at the same time points described before. The other 33 specimens were analyzed by scanning electron microscopy, after formation of initial lesion, after treatments and at the end of the five days of erosive cycling. After formation of initial lesion, specimens were divided in six groups: Control (no treatment), Fluoride (neutral sodium fluoride gel 2%), Nd:YAG1 (0,5W; 50mJ; $\sim 26,6\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm defocused), Nd:YAG2 (0,7W; 70mJ; $\sim 37,5\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm defocused), Fluoride+Nd:YAG1 e Fluoride+Nd:YAG2. Data resulting from profilometer analyzes were subjected to statistical analysis, with the two phases independent. Statistical significance was 5%. In the first phase, all groups showed significant differences in all time periods ($p < 0.001$), except after initial lesion. There was surface loss after irradiation with all Nd:YAG laser protocols. The association of fluoride and laser did not differ significantly from the laser alone. Fluoride had the lowest surface loss values and

groups Nd:YAG2 and Fluoride+Nd:YAG2 presented the highest, with no difference between them. In the second phase, the groups also showed statistically differences among them in all time periods ($p=0.001$). Fluoride and Fluoride+Nd:YAG1 after the first erosive challenge had less surface loss than the other groups. In the other time points, Fluoride, Fluoride+Nd:YAG1 and Fluoride+Nd:YAG2 presented lower surface loss than the Control, which did not differ from those irradiated with Nd:YAG laser only, regardless of the protocol. The micrographs were qualitatively analyzed and showed that laser irradiation at all parameters used, was not able to obliterate the dentinal tubules. Nevertheless, the irradiation caused a reduction in the tubule's diameter. Within the limitations of an *in vitro* study, it can be concluded that fluoride has a protective role in the progression of dental erosion and the Nd:YAG laser can be effective in the treatment of dental erosion when used within the proper parameters.

Keywords: Dental erosion. Dentin. Laser. Fluoride.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Esquema 4.1 - Fluxograma de trabalho das Etapas 1 e 2 (Avaliação em perfilômetro óptico - Per)	35
Esquema 4.2 - Fluxograma de trabalho da Etapa 2 (Avaliação em microscopia eletrônica de varredura - MEV)	43
Quadro 4.1 - Especificações dos grupos de estudo da Etapa 1	35
Figura 4.1 - Preparo das amostras	36
Figura 4.2 - Amostras fixadas com cera na tampa de placas de cultura de células	36
Figura 4.3 - Aplicação do gel de fluoreto de sódio 2% (Flugel - DFL®).....	37
Figura 4.4 - Laser de Nd:YAG (Power Laser™ ST6)	38
Figura 4.5 - Irradiação com o laser de Nd:YAG.....	38
Figura 4.6 - Esquema da ciclagem erosiva, fonte adaptada de Hara et al., 2008 ...	39
Figura 4.7 - Ciclagem erosiva.....	40
Figura 4.8 - Amostras durante o período de remineralização.....	40
Figura 4.9 - Leitura de uma amostra no perfilômetro óptico	41
Figura 4.10 - Análise da profundidade da lesão inicial formada	41
Quadro 4.2 - Especificações dos grupos de estudo da Etapa 2.....	42
Figura 4.11 - Preparo das amostras	44

Figura 4.12 - Amostra para ser analisada em MEV	44
Figura 4.13 - A. Microscópio eletrônico de varredura (FEG, FEI Philips modelo inspect F50) B. Amostras na câmara a vácuo	46
Gráfico 5.1 - Médias de perdas de superfície de cada grupo em cada momento analisado.....	50
Figura 5.1 - Imagens do grupo Controle nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	51
Figura 5.2 - Imagens do grupo Flúor nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	52
Figura 5.3 - Imagens do grupo Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	53
Figura 5.4 - Imagens do grupo Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	54
Figura 5.5 - Imagens do grupo Nd:YAG3 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	55
Figura 5.6 - Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva	56
Figura 5.7 - Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva	57
Figura 5.8 - Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG3 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva	58

Gráfico 5.2 - Perda de superfície após formação da lesão inicial e depois dos tratamentos com flúor e/ou laser de Nd:YAG seguido dos desafios erosivos	61
Figura 5.9 - Imagens do grupo Controle nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	62
Figura 5.10 - Imagens do grupo Flúor nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	63
Figura 5.11 - Imagens do grupo Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	64
Figura 5.12 - Imagens do grupo Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva.....	65
Figura 5.13 - Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva	66
Figura 5.14 - Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva	67
Quadro 5.1 - Descrição dos grupos analisados em microscópio eletrônico de varredura	68
Figura 5.15 - Eletromicrografias grupo A (lesão inicial)	69
Figura 5.16 - Eletromicrografias grupo B (Flúor)	70
Figura 5.17 - Eletromicrografias grupo C (Nd:YAG1)	70
Figura 5.18 - Eletromicrografias grupo D (Nd:YAG2)	70

Figura 5.19 - Eletromicrografias grupo E (Flúor+Nd:YAG1)	71
Figura 5.20 - Eletromicrografias grupo F (Flúor+Nd:YAG2)	71
Figura 5.21 - Eletromicrografias grupo G (Flúor + 5 dias de ciclagem erosiva).....	71
Figura 5.22 - Eletromicrografias grupo H (Nd:YAG1 + 5 dias de ciclagem erosiva) ..	72
Figura 5.23 - Eletromicrografias grupo I (Nd:YAG2 + 5 dias de ciclagem erosiva) ...	72
Figura 5.24 - Eletromicrografias grupo J (Flúor+Nd:YAG1 + 5 dias de ciclagem erosiva)	72
Figura 5.25 - Eletromicrografias grupo K (Flúor+Nd:YAG2 + 5 dias de ciclagem erosiva)	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al_2O_3	Trióxido de Alumínio
CaF_2	Fluoreto de Cálcio
CO_2	Dióxido de Carbono
Er,Cr:YSGG	Érbio-Cromo:Ítrio-Escândio-Gália-Granada
Er:YAG	Érbio:Ítrio-Alumina-Granada
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Nd:YAG	Neodímio:Ítrio-Alumina-Granada
Per	Perfilometria
TiF_4	Tetrafluoreto de Titâneo
pH	Potencial hidrogênico

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	grau(s) celsius
nm	nanômetro
mm	milímetro
µm	micrometro
M	Mol
g	gramo
W	Watt
mW	mili watt
Hz	Hertz
J	Joule
mJ	Milijoule
J/cm ²	joule/centímetro quadrado
%	porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 A erosão dental – fatores biológicos, químicos e comportamentais.....	24
2.2 Erosão dental – estratégias de prevenção e tratamento	26
2.3 Erosão dental – dentina e hipersensibilidade dentinária	27
2.4 Ação do flúor	27
2.5 O laser de Nd:YAG como opção de tratamento para hipersensibilidade dentinária e prevenção de erosão dental	30
3 PROPOSIÇÃO	33
3.1 ETAPA 1.....	33
3.2 ETAPA 2.....	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 ETAPA 1.....	34
4.1.1 Delineamento experimental.....	34
4.1.2 Preparo das amostras.....	35
4.1.3 Desafio erosivo.....	36
4.1.4 Fluoreto de sódio (2%).....	37
4.1.5 Irradiação com laser de Nd:YAG.....	37
4.1.6 Ciclagem erosiva	39
4.1.7 Determinação da erosão.....	40
4.1.8 Análise estatística	41
4.2 ETAPA 2.....	42
4.2.1 Delineamento experimental.....	42
4.2.2 Preparo das amostras.....	43
4.2.3 Desafio erosivo.....	44
4.2.4 Fluoreto de sódio (2%).....	44
4.2.5 Irradiação com laser de Nd:YAG.....	44
4.2.6 Ciclagem erosiva	45
4.2.7 Preparo para microscopia eletrônica de varredura.....	45
4.2.8 Determinação da erosão.....	46
4.2.9 Análise das imagens da microscopia eletrônica de varredura	46

4.2.10 Análise estatística	46
5 RESULTADOS.....	47
5.1 ETAPA 1.....	47
5.1.1 Análise entre os grupos de tratamento	48
5.1.2 Análise de um mesmo grupo nos diferentes tempos experimentais	49
5.1.3 Imagens das análises perfilométricas	51
5.2 ETAPA 2	59
5.2.1 Análise perfilométrica	59
5.2.2 Imagens das análises perfilométricas	62
5.2.3 Análise das imagens da microscopia eletrônica de varredura	68
5.2.4 Imagens da microscopia eletrônica de varredura	69
6 DISCUSSÃO	74
7 CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS.....	84
ANEXOS	96

1 INTRODUÇÃO

Durante muitos anos a Odontologia se preocupou com a doença cárie. Porém, com o avanço das técnicas conservadoras e com a maior preocupação com a prevenção, a prevalência dessa doença diminuiu. Entretanto, devido aos novos hábitos adquiridos pela população e o aumento da expectativa de vida, observa-se um número cada vez maior de lesões não cariosas (Wood et al., 2008).

Essas lesões caracterizam-se pela perda de estrutura dental, após dissolução do esmalte ou cemento dental, decorrentes dos processos de abfração, abrasão, atrição ou erosão. Estes podem ainda ocorrer em associação ou não (Addy; Shellis, 2006; Bartlett; Shah, 2006).

Dentre as lesões não cariosas, a erosão dental é aquela em que há perda de tecido dental causada por ácidos de origem intrínseca ou extrínseca, sem envolvimento bacteriano (Eccles, 1982; Lussi et al., 2006). Esta lesão pode levar a grandes desgastes dentais e consequentemente à hipersensibilidade dentinária (Lussi et al., 2011). Sua incidência tem aumentado devido ao estilo de vida moderno da população (Cavaldini et al., 2000; Murakami et al., 2011; Abu-Ghazaleh et al., 2013).

Nos últimos tempos, a competitividade cresce cada vez mais, fazendo com que as pessoas vivam em constante estresse, que pode manifestar-se em hábitos parafuncionais como bruxismo. Com a vida em um ritmo acelerado não há tempo para uma alimentação saudável, que passa a ser feita de forma rápida e baseada em alimentos industrializados, repletos de conservantes e substâncias ácidas (Sobral et al., 2000; Zero; Lussi, 2006; Lussi et al., 2012).

Ao mesmo tempo em que há cobrança por uma maior produção no trabalho, há a pressão por um padrão de beleza. Para se adequar a esse padrão, as pessoas procuram fazer exercícios físicos, mas muitas vezes trocam a ingestão de água por bebidas isotônicas ou energéticas, pois estas são popularmente conhecidas por melhorar o desempenho do atleta e ajudar na reconstrução muscular. Porém, são bebidas com pH baixo, em torno de 3.0.

A obsessão pela beleza pode ter como consequência o desenvolvimento de distúrbios alimentares como a bulimia e a anorexia, que acarretam em vômitos e refluxos gastroesofágicos. Remédios para emagrecer tornam-se aliados para atingir o padrão de beleza da mídia.

Essas práticas diárias são exemplos de fontes de ácidos que geram as lesões de erosão, que caracterizam-se por lesões amplas, lisas, em forma de cunha (região cervical) ou pires (região oclusal), sem formação de ângulos vivos (Lussi et al., 2004; Oliveira et al., 2010).

A incidência dessas lesões vem aumentando, porém, dificilmente são observadas no início de sua formação. É comum que o paciente procure o cirurgião-dentista apenas quando estas apresentam sintomatologia dolorosa, chamada hipersensibilidade dentinária, fase em que já houve grande e importante perda de cimento e esmalte, com exposição dentinária. Portanto, é necessário decidir o tratamento e a orientação mais adequados para que se possa controlar ou minimizar a progressão desta perda. Entretanto, não é fácil conseguir mudanças de hábitos e dieta por parte do paciente (Amaechi; Higham, 2005). Além disso, é difícil controlar os fatores etiológicos que contribuem para a erosão dental (fatores biológicos, químicos e comportamentais) (Lussi, 2006). É necessário, então, realizar medidas que não dependam tanto da colaboração do paciente.

Há na literatura muitos estudos que utilizaram o laser Nd:YAG na prevenção da erosão dental tanto em esmalte quanto em dentina (Magalhães et al., 2008; Rios et al., 2009; Sobral et al., 2009), além de estudos para tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical (Lan et al., 2004; Naylor et al., 2006; Gholami et al., 2011; Lopes; Aranha, 2013).

O uso do laser de Nd:YAG provoca diversas alterações físicas na superfície dental, que ao ser derretida e solidificada torna-se mais lisa e resistente, com fechamento dos túbulos dentinários, prevenindo a movimentação de seu fluido interno (Naylor et al., 2006, Palazon et al., 2013), diminuindo a condução de estímulos e consequente dor.

Mudanças químicas induzidas pela irradiação com laser de Nd:YAG podem também, de acordo com a literatura, reduzir a progressão das lesões de erosão por formar estruturas mais ácido-resistentes (Naylor et al., 2006; Castellan et al., 2007). Além disso, a associação com fluoretos permite aumento das reservas de flúor, depósito de CaF_2 e formação de fluorapatita, sendo mais eficaz no tratamento da erosão dental (Meurman et al., 1997; Wiegand; Attin, 2003; Magalhães et al., 2008; Rios et al., 2009).

Diante do exposto, seria ideal utilizar um tratamento que seja eficaz tanto para impedir a progressão da lesão de erosão quanto a sintomatologia dolorosa da hipersensibilidade dentinária.

Visando um tratamento efetivo para essas duas realidades, o presente trabalho foi dividido em duas etapas. A primeira etapa avaliou a efetividade no tratamento da erosão em dentina de protocolos presentes na literatura para o tratamento da hipersensibilidade dentinária, utilizando uma análise quantitativa da perda superficial (perfilômetro óptico). Já na segunda etapa, foram usados protocolos mais conservadores, com densidades de energia mais baixas e com isso, tendo menor possibilidade de causar algum dano à estrutura dental. Nesse caso, foram feitas duas análises: a primeira objetivou verificar a ação desses protocolos na progressão da lesão de erosão quantitativamente (perfilômetro óptico) e a segunda análise teve como objetivo avaliar sua eficácia na obliteração tubular (microscopia eletrônica de varredura).

2 REVISÃO DA LITERATURA

A constante exposição dental aos diversos ácidos sejam eles intrínsecos ou extrínsecos resulta na ocorrência da erosão dental. Esta é um tipo de lesão não cáriosa definida pela perda de estrutura dental devido a ação de ácidos sem envolvimento bacteriano (ten Cate; Imfeld, 1996; Lussi, 2006). Esses ácidos podem ser de origem intrínseca ou extrínseca. A primeira origem refere-se aos ácidos provenientes do suco gastroesofágico, de regurgitações e vômitos (Bartlett, 2006). Já os ácidos de origem extrínseca são os provenientes da alimentação diária (bebidas e alimentos ácidos), de medicamentos ácidos e do ambiente de trabalho (Lussi et al., 2004; Amaechi; Higham, 2005).

A lesão de erosão dental é clinicamente caracterizada por uma superfície lisa, opaca, com aspecto amolecido, tendo o rebordo próximo a margem gengival intacto. Quando ocorre na oclusal, caracteriza-se pelo arredondamento das cúspides e formação de concavidades e quando há presença de restaurações, estas aparecem intactas e mais elevadas que os dentes. Em estágios mais avançados, pode ocorrer a perda total da morfologia dental e consequente perda da dimensão vertical. Além disso, o avanço da severidade da erosão dental leva a exposição dos túbulos dentinários podendo gerar hipersensibilidade dentinária (Lussi, Jaeggi, 2008; Magalhães et al., 2009; Lussi et al., 2011).

2.1 A EROSÃO DENTAL – FATORES BIOLÓGICOS, QUÍMICOS E COMPORTAMENTAIS

Fatores químicos, biológicos e comportamentais influenciam na formação e progressão da erosão dental, apresentando portanto, uma natureza multifatorial (Lussi, 2006). No que diz respeito aos fatores químicos, não é apenas o pH da solução que influencia na formação da erosão, mas a presença de cálcio, fosfato e flúor. O grau de saturação da solução em relação ao mineral do dente interfere na dissolução estrutural. Assim, bebidas e alimentos que apresentam em sua composição concentrações de cálcio e fosfato que os deixem supersaturados, como ocorre nos iogurtes e sucos de laranja com aditivos, não formam erosão dental mesmo tendo pH baixo (Larsen; Nyvad, 1999; Lussi; Jaeggi 2006). Segundo Mahoney et al. (2003), a

quantidade de flúor presente em bebidas não é suficiente para ter algum efeito contra a erosão, já que o desafio erosivo é muito forte. Entretanto, pode ter algum efeito protetor em condições mais brandas.

Além do grau de saturação, quanto maior a capacidade de tamponamento da solução, mais tempo levará para a saliva neutralizar o ácido, acarretando em maior dissolução dental (Gray, 1962; Lussi et al., 2011). O tempo em que a bebida ou alimento fica em contato com a superfície dental, determinado pela sua capacidade de aderência e deslocamento, também influencia na erosão dental (Ireland et al., 1995). Igualmente, o tipo de ácido presente nas bebidas e alimentos ditarão seu potencial erosivo. Ácidos fracos como o ácido cítrico, agem de duas formas: através dos íons hidrogênio que agem na camada mineral do dente, combinando-se com íons carbono e/ou fosfato, dissolvendo-a; e através da quelatação do cálcio pelos ânions citrato (Meurman; ten Cate, 1996; Featherstone; Lussi, 2006).

Os fatores biológicos que influenciam na erosão dental são: saliva; película adquirida; qualidade, anatomia e posicionamento do elemento dental em relação aos tecidos moles (Hara et al., 2006). Dentre estes, o fator mais importante é a saliva, que possui diversos mecanismos protetores tais como diluição e limpeza do agente erosivo, neutralização e tamponamento de ácidos e formação da película adquirida (Zero; Lussi, 2000). A película adquirida é composta por glicoproteínas, proteínas, lipídeos e diversas enzimas (Hanning et al., 2005) e se forma rapidamente na superfície dental. Essa camada orgânica funciona como barreira difusora ou membrana semipermeável, prevenindo o contato direto dos ácidos às superfícies dentais (Meurman; Frank, 1991; Hara et al., 2006) e reduzindo o grau de dissolução da hidroxiapatita (Lendenmann et al., 2000).

Quando um desafio erosivo ocorre, fatores comportamentais influenciam na extensão da perda de estrutura dental que haverá (Lussi; Jaeggi, 2008). Um ponto importante, é a forma como bebidas ácidas são ingeridas. Quanto mais tempo estas ficarem na boca e quanto maior a renovação ácida na superfície dental (bochechos), maior será o processo de dissolução dental presente. Além disso, a quantidade de ácido em relação a quantidade de saliva presente interferem neste processo (West et al., 2000; Johansson et al., 2002; Lussi; Jaeggi, 2006). Assim, consumir alimentos e bebidas ácidas em momentos com baixo fluxo salivar, como durante práticas esportivas ou à noite, aumentam o risco de desenvolver erosão dental. Ainda, há ocupações, como trabalhadores de indústrias químicas e provadores de vinhos que

estão constantemente expostos a ácidos, tendo maior risco de desenvolver erosão dental (Wiegand; Attin, 2007).

A prevalência da erosão dental tem aumentado nos últimos tempos (Jaeggi; Lussi, 2006). Isso tem sido influenciado pelo aumento do consumo de bebidas e alimentos ácidos, como refrigerantes, energéticos e alimentos industrializados. O estresse, cada vez mais presente do dia-a-dia da população mundial também colabora com esse fato, já que ajuda no desenvolvimento de hábitos parafuncionais (bruxismo e apertamento) e doenças gastroesofágicas (Jansson et al., 2010).

2.2 EROSÃO DENTAL – ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO E TRATAMENTO

Diante desses fatores, a conscientização da população quanto a esse tipo de problema dental é necessária e medidas preventivas devem ser tomadas para que não haja grande perda de estrutura dentária. Como forma de prevenir a lesão de erosão dental, podemos citar a orientação da dieta, com menor quantidade e frequência de ingestão de bebidas e alimentos ácidos, além de orientar o modo como esses ácidos devem ser ingeridos, para que fiquem o menor tempo possível na cavidade bucal (Bassiouny; Yang, 2005; Magalhães et al., 2009). Outra forma de prevenção está relacionada à higiene oral, devendo-se orientar a escovação de modo que esta seja feita com pouca força e utilizando-se pastas dentais pouco abrasivas e fluoretadas. Postergar a escovação após as refeições por 30 a 60 minutos pode ajudar a diminuir um pouco a perda de estrutura dental (Attin et al., 2001; Lussi et al., 2004).

Como já dito anteriormente, a presença de saliva ajuda na proteção da estrutura dental contra os ataques ácidos. Deste modo, estimular o fluxo salivar quando este está diminuído, é uma forma de prevenção. Isso pode ser feito com uso de gomas de mascar sem açúcar (Rios et al., 2006) ou de substitutos salivares, podendo ainda serem utilizados medicamentos que tenham esse fim, como é o caso de drogas colinérgicas (Meyer-Lückel et al., 2006). Evitar a escovação antes da ingestão ácida evita a remoção da película adquirida, que age como uma barreira contra desmineralização (Hanning; Balz, 1999). Pacientes com erosão dental devido a ácidos de origem intrínsecas devem ser encaminhados ao médico para tratamento do problema.

Estratégias preventivas que não dependam tanto da colaboração do paciente são desejáveis. É o caso de bebidas com potencial erosivo diminuído devido a adição

de íons cálcio, fosfato e flúor. Este último também pode ser utilizado em alta concentração através da aplicação tópica pelo dentista (Magalhães et al., 2009).

É ideal que a lesão de erosão dental seja diagnosticada precocemente para que sejam tomadas as devidas medidas preventivas evitando que esta lesão chegue a estágios avançados, quando pode haver perda da dimensão vertical, prejuízo estético e exposição dos túbulos dentinários. Entretanto, é uma lesão de difícil diagnóstico precoce principalmente pelo fato de não ter sintomatologia em estágios iniciais, assim sua detecção depende apenas da observação clínica das superfícies dentais e não há dispositivos que ajudem nesta avaliação (Ganss et al., 2006; Lussi; Jaeggi, 2008).

2.3 EROSÃO DENTAL – DENTINA E HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA

A progressão da lesão de erosão em dentina inicialmente é mais rápida que no esmalte, devido ao maior conteúdo de carbonato, deixando a dentina mais solúvel ao ácido (Lussi, 2006). A desmineralização dentinária, no início ocorre de forma linear e com a contínua exposição ácida a dentina peritubular é mais dissolvida, enquanto que a dentina intertubular permanece mais estável. Há formação de uma dentina completamente desmineralizada, seguida de uma parcialmente desmineralizada e, então, a dentina sadia (Kinney et al., 1995; Lussi et al., 2011). A matriz colágena presente na camada superficial interfere na evolução da lesão, diminuindo a perda mineral devido às propriedades de tamponamento do colágeno. Além disso, o mineral dissolvido não é removido devido aos líquidos circundantes, deixando o local saturado (Kleter et al., 1994; Hara et al., 2005; Ganss et al., 2009).

A exposição da dentina pode gerar hipersensibilidade dentinária, caracterizada por uma dor aguda de curta duração em resposta a estímulos térmicos, evaporativos, táteis, osmóticos ou químicos, e que não está relacionada a qualquer outro defeito ou patologia dental (Holland et al., 1997). O mecanismo que melhor explica sua ocorrência é a Teoria Hidrodinâmica, em que os estímulos gerados na dentina exposta leva a movimentação do fluido dentinário dentro dos túbulos, ativando barorreceptores que levam a informação ao cérebro, gerando a dor (Brannström et al., 1967).

Grossman (1935), sugeriu que um agente dessensibilizante ideal não poderia irritar ou danificar a polpa dental, não deveria causar dor no momento da aplicação ou logo depois, não deveria manchar estrutura dental, deveria ser fácil de aplicar, com

ação rápida e permanente. Os agentes dessensibilizantes podem agir impedindo que os estímulos cheguem na dentina hipersensível, ocluindo os túbulos dentinários ou diminuindo a excitabilidade do nervo pulpar (Orchardson; Gillam, 2006).

Para tratar a hipersensibilidade dentinária deve-se primeiramente identificar e eliminar a causa. Então, inicia-se um tratamento caseiro com dentifrícios dessensibilizantes presentes no mercado. Caso não haja efeito ou quando os sintomas ocorrem apenas em um ou dois dentes, o tratamento é feito em consultório com dessensibilizantes com maior potencial de redução da dor aplicados topicamente (fluoretos, nitrato de potássio e fosfato de cálcio são exemplos), ou utilizando adesivos específicos para dessensibilização (adesivos a base de glutaraldeído como o Gluma Desensitizer), terapias com laser (de alta e baixa potência) e, em casos mais avançados, restaura-se o dente (Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity, 2003; Orchardson; Gillam, 2006; Lin et al., 2013).

Independentemente de haver hipersensibilidade dentinária, a erosão dental deve ser tratada de forma a impedir sua progressão. Como mudanças de hábitos dos pacientes são muito difíceis, medidas que não dependam tanto da sua colaboração devem ser tomadas (Amaechi; Higham, 2005). Além disso, medidas eficazes tanto no tratamento da erosão dental quanto da hipersensibilidade dentinária são desejáveis.

2.4 AÇÃO DO FLUORETO

A ação do flúor na prevenção da cárie dental é bem estabelecida, entretanto, não se sabe ao certo seu papel na erosão dental. O contato do flúor com o dente antes ou após sua erupção, pode fazer com que o flúor seja incorporado ao esmalte formando fluorapatita e fluorhidroxiapatita, estruturas mais resistentes à desmineralização (Luoma, 1986). Acredita-se que, semelhante à sua ação contra a cárie dental, o flúor pode ajudar a diminuir a susceptibilidade dos tecidos dentários à formação de lesões de erosão dental (Wiegand; Attin, 2003).

Muitos estudos tem surgido com o intuito de avaliar a ação de fluoretos na prevenção da erosão dental e no impedimento de sua progressão (Ganss et al., 2001; Schlueter et al., 2010; Venasakulchai et al., 2010; White et al., 2012; Pancote et al., 2014). O flúor age formando uma camada de fluoreto de cálcio (CaF_2), que serve como barreira protetora contra os ácidos e como reservatório mineral, que em presença de

desafio ácido age tamponando os ácidos ou promovendo remineralização da estrutura dental (Saxegaard; Rolla, 1988; Ganss et al., 2007).

Pode haver maior formação do CaF_2 com o aumento da concentração de flúor ou do tempo de exposição e com a diminuição do pH do agente tópico (Saxegaard; Rolla, 1988). A camada de CaF_2 é formada na superfície do esmalte enquanto que na dentina está presente tanto em dentina peri e intertubular (Laufer et al., 1981) quanto em regiões mais profundas (dentina intratubular), onde agem como reservatórios de flúor (Hellwig, 1992). O flúor é retido na dentina erodida devido a porosidade e água presentes (ten Cate et al., 1995) e no esmalte devido a interação com a hidroxiapatita.

Tem se visto que o uso de fluoretos em altas concentrações são mais eficazes no tratamento de lesões de erosão (Ganss et al., 2001; Venasakulchai et al., 2010). O uso de altas concentrações de flúor tem mostrado ainda aumento na microdureza dental após desafios ácidos e maior resistência à abrasão pela escovação de esmalte e dentina erodidos (Lagerweij et al., 2006; Austin et al., 2010).

No que diz respeito a dentina erodida, também é discutida a influência da matriz orgânica na eficácia do tratamento com flúor. Há pesquisadores que acreditam que esta pode ajudar na eficácia do flúor contra a progressão da erosão, já que conforme a desmineralização avança, sua espessura aumenta ocorrendo diminuição na progressão da lesão devido a sua ação como barreira seletiva e a suas propriedades de tamponamento (Ganss et al., 2010). Outros acreditam que o aumento do pH pode ocorrer não só no ácido em contato com a matriz orgânica mas também na própria solução que contém flúor. Isso poderia prejudicar a ação dos fluoretos, pois estes são mais eficazes em locais com pH mais ácido (Wiegand et al., 2009a; Wiegand et al., 2009b; Schlueter et al., 2010).

Wiegand et al. (2009b) mostraram que soluções de TiF_4 e NaF em pH 1,2 foram capazes de recobrir os túbulos dentinários, sendo que o primeiro formou uma superfície globular e o segundo induziu formação de precipitados. Pode-se supor, que essas soluções poderiam ser eficazes no tratamento da hipersensibilidade dentinária, já que obliteraram os túbulos de alguma forma. Entretanto, não foi avaliada a resistência dessa formação após contato com ácidos erosivos.

2.5 O LASER DE Nd:YAG COMO OPÇÃO DE TRATAMENTO PARA HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA E PREVENÇÃO DA EROSÃO DENTAL

Uma alternativa que tem sido estudada tanto para a prevenção da erosão dental quanto para o tratamento da hipersensibilidade dentinária é o uso do laser. Laser é o acrônimo de *Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation*, ou seja, amplificação da luz pela emissão estimulada da radiação. Os lasers são divididos em lasers de baixa potência e de alta potência. A principal diferença entre eles é que o último interage termicamente com o tecido, havendo possibilidade de remoção de tecido. O outro, por sua vez, atua a nível celular, tendo finalidade terapêutica (analgesia, biomodulação, ação antiinflamatória) e podem trabalhar no comprimento de onda vermelho ou infravermelho.

Há diversos tipos de lasers de alta potência utilizados em odontologia. Dentre eles, os lasers de Nd:YAG, de Er:YAG, de CO₂ tem sido muito estudados com a finalidade de obliteração dos túbulos dentinários e aumento da resistência ácida dos tecidos duros (Vlacic et al., 2007; Steiner-Oliveira et al., 2010; Dilber et al., 2013). O laser de Nd:YAG foi o primeiro a ser utilizado para o tratamento da hipersensibilidade dentinária (Matsumoto et al., 1985) e é o mais usado com essa finalidade nos últimos tempos. Assim, ele tem sido considerado padrão ouro, pela sua efetividade e facilidade de utilização clínica (Gelskey et al., 1993; Lan; Liu, 1996; Lier et al., 2002; Dilsiz et al., 2010; Lopes; Aranha, 2013).

O laser de Nd:YAG possui comprimento de onda de 1064nm, tendo afinidade por hemoglobina, por isso é muito utilizado em cirurgias bucais. A taxa de absorção deste laser pelo esmalte e dentina é muito baixa, assim ele não tem grande efeito ablativo mas possibilita modificações na superfícies destes tecidos. Entretanto, por este laser ser pouco absorvido pelo tecido dental, sua energia pode penetrar profundamente no dente, podendo causar danos a polpa (Zapletalová et al., 2007). Por esse motivo, é importante utilizar energias adequadas e pulsadas, com durações de pulso curtas (MacDonald et al., 2002).

A absorção do laser de Nd:YAG pelo esmalte e dentina é maior com o uso de corantes, principalmente a eritrosina, como mostrou Zapletalová e colaboradores (2007). O corante absorve mais intensamente a energia do laser e aumenta a temperatura superficial mais rapidamente, permitindo o derretimento da superfície dental. Devido a camada de corante acumular calor, o uso de energias menores é possível. Além disso, evita danos ao dente. Quando não é empregado corante antes da irradiação com o laser de Nd:YAG, energias mais altas devem ser utilizadas para que ocorra derretimento da superfície, não ultrapassando o limite seguro para as

estruturas dentais (Zapletalová et al., 2007). Clinicamente, não se tem usado o laser de Nd:YAG associado a um corante, pois gera manchamento no elemento dental, interferindo na estética pós-irradiação.

Em esmalte, o laser de Nd:YAG atua induzindo derretimento e ressolidificação da superfície, podendo reduzir os espaços interprismáticos, e conseqüentemente, diminuir a permeabilidade do esmalte e aumentando sua resistência ácida. O aquecimento do esmalte também gera modificações químicas em sua estrutura, como por exemplo, formação de ions pirofosfato, que é menos solúvel que a hidroxiapatita (Castellan et al., 2007).

A irradiação deste laser na dentina provoca derretimento, fusão e ressolidificação, devido a degradação da hidroxiapatita presente em sua estrutura. A formação de crateras também pode ocorrer, principalmente quando a camada de esfregaço está presente (Lan et al., 2000). A dentina irradiada tem seu conteúdo inorgânico aumentado, o que pode estar relacionado com o aumento de sua resistência à desmineralização.

Além de o laser de Nd:YAG promover alterações físicas e químicas que deixam as estruturas dentais mais ácido-resistentes, sendo um tratamento promissor para a erosão dental, essas alterações ainda podem ser eficazes no tratamento da hipersensibilidade dentinária. O derretimento e ressolidificação que ocorrem na superfície dentinária, resultam em obliteração e/ou redução do diâmetro dos túbulos dentinários (Naylor et al., 2006). O laser também pode atuar bloqueando a despolarização de fibras nervosas gerando analgesia e então reduzindo a hipersensibilidade dentinária (Whitters et al., 1995; Orchardson et al., 1997).

A associação da irradiação do laser e aplicação de flúor tem sido muito estudada para prevenir erosão tanto em esmalte quanto em dentina (Vlacic et al., 2007; Magalhães et al., 2008; Rios et al., 2009; Sobral et al., 2009; Steiner-Oliveira et al., 2010). Sugerem-se ocorrências de alterações físico-químicas como formação de microespaços no tecido dental, possibilitando depósito de flúor com conseqüente formação de reservatório, e transformação de hidroxiapatita em fluorapatita (Gao et al., 2006; Vlacic et al., 2007).

No entanto, a eficácia da irradiação do laser de Nd:YAG na progressão da erosão dental quando esta já está instalada, não foi encontrada na literatura. Além disso, não há relato da avaliação quantitativa de sua ação na superfície dental. Ainda, a utilização de energias mais baixas do laser de Nd:YAG no tratamento da erosão

dental e concomitantemente no tratamento da hipersensibilidade dentinária seria interessante, pois a chance de algum dano na estrutura dental é muito menor.

3 PROPOSIÇÃO

Com o objetivo de testar protocolos para o tratamento da erosão dental e da hipersensibilidade dentinária, este trabalho foi dividido em duas etapas.

3.1 ETAPA 1

A primeira etapa deste trabalho *in vitro* teve por objetivo avaliar a progressão das lesões de erosão pré-existent em dentina, após tratamentos com diferentes protocolos do laser de Nd:YAG e flúor, por meio da perfilometria óptica.

3.2 ETAPA 2

Esta etapa objetivou avaliar a eficácia de protocolos mais conservadores do laser de Nd:YAG (densidades de energias mais baixas), associados ou não ao flúor, na progressão das lesões de erosão em dentina, também utilizando o perfilômetro óptico. Além disso, através de imagens obtidas por meio da microscopia eletrônica de varredura, objetivou verificar o efeito desses protocolos na obliteração dos túbulos dentinários.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi dividido em duas etapas. Na etapa 1, foram utilizados protocolos do laser de Nd:YAG já empregados clinicamente no tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical e testados em laboratório na prevenção da erosão dental com o objetivo de verificar sua eficácia no bloqueio da progressão de lesões de erosão dental. Como os resultados foram invasivos em dentina erodida, foi realizada a etapa 2 com protocolos mais conservadores do laser de Nd:YAG e, portanto, com hipótese de menor dano ao elemento dental erodido. Nesta, ainda, foi acrescentada a análise por microscopia eletrônica de varredura, para verificar se, além de impedir a progressão da erosão dental, esses protocolos seriam capazes de obliterar os túbulos dentinários e assim, indicar os mesmos para o tratamento da erosão dental e hipersensibilidade dentinária.

4.1 ETAPA 1

Para avaliar a progressão da lesão de erosão em dentina, foram utilizados 120 terceiros molares humanos, doados pelo Banco de Dentes Humanos da FOUSP após aprovação do Comitê de Ética da mesma instituição (CAAE 317.635 – Anexo A).

4.1.1 Delineamento experimental

Os quadrados de dentina obtidos a partir desses dentes foram divididos em 8 níveis experimentais (Quadro 4.1) e avaliados em 5 tempos diferentes (Esquema 4.1), sendo um delineamento 6X5.

	Grupos	Especificações
1	Controle	Nenhum tratamento (controle negativo)
2	Flúor	Gel de fluoreto de sódio neutro 2% (Flugel, DFL)
3	Nd:YAG 1	0,5W; 50mJ; ~41,66J/cm ² ; 10Hz; 40s; em contato
4	Nd:YAG 2	0,70W; 70mJ; ~62,50J/cm ² ; 10Hz; 40s; em contato
5	Nd:YAG 3	1,0W; 100mJ; ~54,16J/cm ² ; 10Hz; 40s; 1mm desfocado
6	Flúor + Nd:YAG 1	Aplicação do flúor antes da irradiação com o laser
7	Flúor + Nd:YAG 2	Aplicação do flúor antes da irradiação com o laser
8	Flúor + Nd:YAG 3	Aplicação do flúor antes da irradiação com o laser

Quadro 4.1 - Especificações dos grupos de estudo da Etapa 1

Esquema 4.1 - Fluxograma de trabalho das Etapas 1 e 2 (Avaliação em Perfilômetro Óptico - Per)

4.1.2 Preparo das amostras

Inicialmente, foi feita a limpeza dos dentes com curetas Gracey 11-12 e 13-14 e com escova tipo Robinson, em baixa rotação, com pedra-pomes e água, finalizando com jato de ar/água. Estes foram armazenados em água destilada à 4°C antes do início do experimento. A face vestibular de cada dente foi desgastada em politriz (Ecomet 3 Machine, Buehler LTD., Lake Buff, Illinois, EUA), sob refrigeração contínua, com lixas de carbeto de silício de granulação #180 até exposição da dentina superficial. Após esse desgaste, uma marcação correspondente à delimitação de corte das amostras foi realizada com grafite 0.5 mm e com o auxílio de paquímetro digital (Mitutoyo). Em seguida, os dentes foram seccionados em máquina de cortes seriados (Isomet, Buehler) em quadrados de dentina com dimensões de 4x4x2 mm. As amostras foram embutidas em resina acrílica (Varidur, Buehler) e os blocos formados foram planificados e polidos com discos abrasivos, sob refrigeração (papéis

de Al_2O_3 de granulação 500-, 1200-, 2400- e 4000-; MD-Fuga, Struers Inc, Cleveland, OH, USA) e disco de feltro com suspensão diamantada (1 μm ; Struers Inc.).

Após o polimento, as amostras passaram por um banho com detergente em cuba ultrassônica, por 3 minutos. As amostras sem fraturas ou qualquer outro defeito foram selecionadas. Realizou-se uma leitura perfilométrica inicial para verificar se a curvatura estava adequada. As amostras que possuíram curvatura maior que 0,3 μm foram descartadas. Então, as superfícies polidas receberam uma fita adesiva, deixando uma janela central de 4x1 mm exposta para receber os tratamentos (Figura 4.1). As amostras foram randomizados nos oito grupos experimentais (Quadro 4.1).

Figura 4.1 – Preparo das amostras

4.1.3 Desafio erosivo

As amostras foram, primeiramente, fixadas com cera 7 na tampa de placas de cultura de células de 12 poços, para individualização das soluções (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Amostras fixadas com cera na tampa de placas de cultura de células

Para induzir a erosão ácida inicial, *in vitro*, as amostras foram imersas por 10 minutos em 6 mL de ácido cítrico a 1% (ácido cítrico monohidratado – $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,05 M; $M=210,14\text{g/mol}$; $\text{pH} \sim 2,3$) (Lagerweij et al., 2006; Ganss et al., 2001; Ganss et

al., 2010), em temperatura ambiente. Após a imersão, as amostras foram lavadas com água destilada e foi realizada a primeira leitura perfilométrica, denominada de Per-1.

Para cada leitura perfilométrica, as amostras foram removidas das placas e limpas para que não houvesse nenhuma interferência na leitura. As fitas de cada amostra também foram removidas antes de cada leitura e reposicionadas após a mesma.

Com a lesão de erosão inicial formada, as amostras foram distribuídas aleatoriamente entre os grupos experimentais e passaram pelos tratamentos de acordo com o Quadro 4.1. Então, uma nova leitura perfilométrica (Per-2) foi realizada.

4.1.4 Fluoreto de Sódio (2%)

As amostras dos grupos com flúor, receberam aplicação de gel de fluoreto de sódio neutro a 2% (Flugel, DFL®, Rio de Janeiro, Brasil) durante 1 minuto, sendo o excesso removido com papel absorvente (Figura 4.3). Nos grupos em que houve associação do laser de Nd:YAG com flúor, a aplicação do fluoreto de sódio foi realizada previamente às irradiações, nos diferentes protocolos empregados, sendo o excesso de flúor também removido com papel absorvente (Quadro 4.1).

Figura 4.3 – Aplicação do gel de fluoreto de sódio 2% (Flugel - DFL®)

4.1.5 Irradiação com Laser de Nd:YAG

O laser de Nd:YAG utilizado (Power Laser™ ST6, Lares Research®, Chico, CA, Estados Unidos – Auxílio FAPESP 2007/55487-0, possui comprimento de onda de 1064 nm, trabalha em modo pulsado, com largura de pulso de 120 a 300 μ s e taxa de repetição de 10 a 50 Hz. Sua potência pode variar de 0,5 a 6 watts (Figura 4.4).

Figura 4.4 – Laser de Nd:YAG (Power Laser™ ST6)

As irradiações com laser de Nd:YAG ocorreram em modo pulsado e perpendicular à superfície, utilizando uma fibra de quartzo de 400 μm de diâmetro, na região pré-estabelecida, fazendo-se movimentos de varredura nos sentidos horizontal e vertical. Foram realizadas quatro irradiações de 10 segundos (duas em cada sentido), totalizando uma irradiação de 40 segundos, abrangendo toda a superfície da lesão formada. Houve intervalo de 10 segundos entre as irradiações para relaxamento térmico do tecido (Figura 4.5). Os protocolos Nd:YAG1 e Nd:YAG2 foram realizados em modo contato e focado, já o protocolo Nd:YAG3 foi realizado sem contato (desfocado em 1mm).

Figura 4.5 – Irradiação com o laser de Nd:YAG

Anteriormente a todas as irradiações, foram realizadas medições da quantidade real de potência entregue através de um medidor de potência (Coherent, Newport, Estados Unidos), mostrando não haver perda durante qualquer uma das irradiações realizadas.

4.1.6 Ciclagem erosiva

As amostras foram novamente fixadas com cera 7 na tampa das placas. A ciclagem consistiu em 3 minutos de imersão em 6mL de ácido cítrico 1% (pH ~ 2,3) seguida 60 minutos de imersão em 6mL de saliva artificial (0,213g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,738g/L de KH_2PO_4 ; 1,114g/L de KCl; 0,381g/L de NaCl; 12g/L de Tris buffer, pH 7) (Scaramucci et al., 2013), 6 vezes ao dia, por 5 dias (Figuras 4.6 e 4.7). Durante o período de remineralização, as placas ficaram em mesa agitadora a 35 rpm (agitador orbital, A-9000-B, BrLabs®, Campinas, Brasil) (Figura 4.8). A solução de ácido cítrico foi trocada após cada episódio de desmineralização (6 vezes por dia), já a saliva artificial foi trocada no início de cada ciclo (1 vez por dia). Ao final do primeiro, terceiro e quinto dias, foram feitas novas leituras perfilométricas, Per-3, Per-4 e Per-5, respectivamente. Para isso, as amostras foram retiradas das tampas e as fitas removidas das amostras (Figura 4.6).

Figura 4.6 – Esquema da ciclagem erosiva, fonte adaptada de Hara et al., 2008.

Figura 4.7 – Ciclagem erosiva

Figura 4.8 – Amostras durante o período de remineralização

4.1.7 Determinação da Erosão

A superfície teste foi analisada com um perfilômetro óptico (Proscan 2100, Scantron, Venture Way, Tauton, UK – Processo Fapesp 2011/17699-1), para a determinação da perda de superfície (Figura 4.9). O sensor do aparelho escaneou uma área de 2 mm de comprimento (no eixo X) por 1 mm de largura (eixo Y), no centro da amostra. Tanto a área tratada quanto as superfícies de referência nos dois lados (onde a fita estava posicionada) fizeram parte da leitura. O aparelho foi programado para percorrer um número de 200 passos com tamanho de 0,01mm, no eixo X. No eixo Y, o tamanho dos passos foi de 0,05 mm e o número de 20.

Figura 4.9 – Leitura de uma amostra no perfilômetro óptico

Com o uso de um software específico (Proscan Application software version 2.0.17), a profundidade da lesão foi calculada baseando-se na subtração da média da altura da área teste, em relação à média da altura das superfícies de referência (Steiner-Oliveira et al., 2010; Scaramucci et al., 2011) (Figura 4.10).

Figura 4.10 – Análise da profundidade da lesão inicial formada

4.1.8 Análise estatística

Os valores obtidos foram submetidos à análise estatística para determinação da homogeneidade e normalidade da amostra. Como não houve normalidade, foi feita análise não-paramétrica.

Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos e o teste de Friedman para a comparação entre as diversas medidas perfilométricas de uma mesma amostra nos diversos tempos. Para verificar aonde as diferenças ocorreram, foram utilizadas as comparações múltiplas de Tukey. As análises dos dados foram feitas por meio do software estatístico Minitab, versão 16.1 com significância estatística de 0,05.

4.2 ETAPA 2

Para realização desta etapa, foram utilizadas 93 amostras de dentina extraídas de 90 terceiros molares humanos doados pelo Banco de Dentes Humanos da FOU SP, após aprovação do Comitê de Ética da FOU SP (aprovação CAAE 658.987 – Anexo B). Dez amostras foram utilizadas para avaliação perfilométrica e três para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A variável de resposta foi a progressão da lesão de erosão nos diversos tempos, medida pela profundidade da lesão (em μm) e avaliação das características de superfície nos diversos tempos.

4.2.1 Delineamento experimental

Esse estudo seguiu delineamento com 2 fatores experimentais, 6X5 na análise perfilométrica, sendo tratamento em 6 níveis (Quadro 4.2) e tempo em 5 níveis (Esquema 4.1 – página 36) e 6X3 na MEV, sendo os mesmos níveis de tratamento, mas o tempo em 3 níveis (Esquema 4.2).

Grupos	n/grupo	Especificações
Controle	13	Sem nenhum tratamento
Flúor	13	Aplicação de fluoreto de sódio neutro 2% por 1min
Nd:YAG1	13	0,5W; 50mJ; $\sim 26,6\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm desfocado
Nd:YAG2	13	0,7W; 70mJ; $\sim 37,5\text{J}/\text{cm}^2$; 10Hz; 40s; 1mm desfocado
Flúor+Nd:YAG1	13	Aplicação de flúor seguida da irradiação Nd:YAG1
Flúor+Nd:YAG2	13	Aplicação de flúor seguida da irradiação Nd:YAG2

Quadro 4.2 - Especificações dos grupos de estudo da Etapa 2

Esquema 4.2 - Fluxograma de trabalho da Etapa 2 (Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV)

4.2.2 Preparo das amostras

Primeiramente, os dentes foram limpos com curetas Gracey 11-12 e 13-14 para remoção dos tecidos residuais aderidos e submetidos a profilaxia com escova tipo Robinson, em baixa rotação, com pedra-pomes e água, finalizando com jato de ar/água. Foram armazenados em água destilada à 4°C. Em uma máquina de cortes seriados (Isomet, Buehler), removeu-se o esmalte oclusal e foram cortados quadrados de dentina superficial com tamanho de 4x4x2 mm. As amostras foram embebidas em resina acrílica (Varidur, Buehler) e os blocos formados foram planificados com discos abrasivos sob refrigeração (papéis de granulação 600- e 1200-) e polidos com disco de feltro microCloth e suspensão de alumina (0,3 µm; Alpha micropolish II - Buehler) em Ecomet 250 acoplada a um cabeçote pneumático AutoMet 250. Depois do polimento, as amostras passaram por um banho com detergente em cuba ultrassônica, por 3 minutos. As amostras que não possuíam fraturas ou nenhum outro defeito foram selecionadas. Foi feita uma leitura perfilométrica inicial para verificar se a curvatura estava adequada e 60 amostras com curvatura de até 0,3 µm foram selecionadas para análise perfilométrica. Em seguida, as superfícies polidas receberam uma fita adesiva, deixando uma janela central de 4x1 mm exposta para receber os tratamentos (Figura 4.11). Trinta e três amostras foram utilizadas para análise em MEV. Estas tiveram metade da superfície polida protegida com fita adesiva, para ter área íntegra de comparação em todas as amostras (Figura 4.12).

Figura 4.11 – Preparo das amostras

Figura 4.12 – Amostra para ser analisada em MEV

4.2.3 Desafio erosivo

Para indução da lesão de erosão inicial, foram utilizados os mesmos parâmetros já descritos acima (verificar item 4.1.3, página 37).

Com a lesão de erosão formada, as amostras foram randomizadamente distribuídas em 6 grupos experimentais ($n=10$), passando pelos tratamentos de acordo com o quadro 4.2 e uma nova leitura perfilométrica (Per-2) foi realizada.

Das 33 amostras, 3 foram analisadas em MEV após a formação da lesão de erosão inicial, para avaliar a morfologia dentinária (Esquema 4.2).

4.2.4 Fluoreto de Sódio (2%)

Os procedimentos para aplicação do gel de fluoreto de sódio nesta etapa foram semelhantes aos realizados na etapa 1 (ver item 4.1.4, página 38).

4.2.5 Irradiação com laser de Nd:YAG

As irradiações com laser de Nd:YAG (Power Laser™ ST6, Lares Research®, Chico, CA, Estados Unidos), foram feitas em modo pulsado, desfocado, sem contato e perpendicular à superfície da amostra, utilizando uma fibra de quartzo de 400 μm de diâmetro e protocolo de acordo com cada grupo. Realizaram-se quatro irradiações de 10 segundos cada, fazendo-se movimentos de varredura, sendo duas irradiações no

sentido horizontal e duas no sentido vertical, abrangendo toda a superfície da lesão formada e totalizando 40 segundos. Entre as irradiações houve um intervalo de 10 segundos para relaxamento térmico do tecido (Figura 4.5 – página 39).

Após os tratamentos, além da segunda leitura perfilométrica, 3 amostras de cada grupo de tratamento foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura.

4.2.6 Ciclagem erosiva

A ciclagem erosiva foi realizada nos mesmos moldes descritos no item 4.1.6 (página 40). Após o último dia de ciclagem, 3 amostras de cada grupo foram analisadas em MEV.

4.2.7 Preparo para Microscopia Eletrônica de Varredura

Para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), inicialmente, as amostras foram fixadas com uma solução de glutaraldeído a 3%, em tampão de cacodilato de sódio 0,1 M e com pH 7,4, por 24 horas. Em seguida, lavou-se para remoção do fixador com uma solução de cacodilato de 0,1M, em capela com exaustão durante uma hora.

Na etapa seguinte, de desidratação, foram utilizadas concentrações crescentes de etanol, ou seja, álcool etílico a 50%, 70%, 80%, 90% e 95% por um período de 5 minutos cada um, até chegar no etanol absoluto (100%), momento em que foram realizadas 3 lavagens de 10 minutos cada uma. Imediatamente após a última lavagem, as amostras foram submersas em uma solução de HMDS por 10 minutos. Então, a solução foi retirada, dando início ao processo de secagem por 3 horas na capela com exaustão.

As amostras preparadas foram montadas nos stubs de alumínio e devidamente identificadas. Depois de montadas, elas foram armazenadas na estufa a temperatura de 37°C, por aproximadamente 10 horas, com o objetivo de mantê-las secas e desidratadas para serem metalizadas (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein). Após a metalização, as amostras foram analisadas em um microscópio eletrônico de varredura (FEG, FEI Philips modelo inspect F50) (Figura 4.13).

Figura 4.13 – A. Microscópio eletrônico de varredura (FEG, FEI Philips modelo inspect F50) B. Amostras na câmara a vácuo

4.2.8 Determinação da Erosão

A determinação da erosão dental foi realizada de acordo com o item 4.1.7 (página 41).

4.2.9 Análise das imagens da microscopia eletrônica de varredura

As imagens foram analisadas qualitativamente, por meio de observação e comparação (Naylor et al., 2006; Palazon et al., 2013).

4.2.10 Análise estatística

Os valores obtidos na perfilometria foram log-transformados para atingir normalidade e homogeneidade de variância. Análises de variância (ANOVA), dois fatores, de medidas repetidas foram aplicadas, de acordo com modelo linear, para investigar os efeitos das variáveis independentes Tratamento e Tempo na perda de superfície (variável dependente). Comparações “post hoc” foram feitas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Cálculos estatísticos foram realizados com o programa SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos no perfilômetro óptico das duas etapas foram analisados separadamente.

5.1 ETAPA 1

De acordo com o teste de Levene (teste para verificação da homogeneidade das variâncias, entre os grupos de tratamento), exceto para a leitura perfilométrica Per-1 as demais mostraram significância estatística muito elevada ($p < 0,001$). Mesmo aplicando uma transformação nos dados (LOG_{10}), o teste de Levene continuou apresentando significância estatística elevada ($p < 0,001$ em todas as medidas perfilométricas, exceto Per-1).

Portanto, para a avaliação dos dados do presente estudo, optou-se por uma análise não paramétrica: Teste de Kruskal-Wallis para a comparação entre grupos e teste de Friedman para a comparação de uma mesma amostra nos diversos tempos experimentais. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar a diferença entre grupos de tratamento, em cada avaliação perfilométrica. No caso de significância estatística, os dados originais foram transformados em postos e então realizado as comparações múltiplas de Tukey para verificar quais grupos diferiam entre si. O teste de Friedman foi utilizado para verificar a diferença entre as avaliações perfilométricas de um mesmo grupo. O mesmo foi feito para verificar quais avaliações diferiam entre si, porém aqui utilizaram-se comparações múltiplas pelo método de Tukey.

As estatísticas resumo, por análise perfilométrica e por grupo de tratamento foram apresentadas com os dados originais, bem como com os dados transformados em postos, tanto para a comparação entre grupos, quanto para a comparação entre as avaliações perfilométricas (Anexos C, D e E).

Para a análise dos dados, foi utilizado o software estatístico Minitab, versão 16.1. Significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

Todos os grupos apresentaram lesões de erosão iniciais entre 2-5 μm . Os grupos em que foi feita a irradiação com o laser de Nd:YAG, independente do protocolo, apresentaram carbonização e ablação da dentina, com formação de crateras observadas em perfilometria. Em todos os momentos analisados, os grupos

apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si ($p < 0,001$, teste de Kruskal-Wallis).

5.1.1 Análise entre os grupos de tratamento

Em relação aos tratamentos realizados (Per-2), os grupos apresentaram diferenças significantes entre si ($p < 0,001$, teste de Kruskal-Wallis). Através das comparações múltiplas de Tukey (aplicado aos dados transformados em postos), verificou-se que os grupos controle e flúor não se diferenciaram entre si, mas foram estatisticamente diferentes dos demais grupos, não apresentando perda estrutural. Entretanto, todos os demais grupos apresentaram perda estrutural, sendo os grupos Nd:YAG2 e Flúor+Nd:YAG2 os que obtiveram maior perda (Anexo F.1).

Em todos os momentos analisados da ciclagem erosiva, pelo teste de Kruskal-Wallis, os grupos apresentaram diferenças significantes entre si ($p < 0,001$) e foram utilizadas comparações múltiplas de Tukey (aplicado aos dados transformados em postos) para verificar aonde essas diferenças ocorreram. Na avaliação perfilométrica Per-3 (após primeiro dia de ciclagem erosiva), o grupo controle apresentou diferença estatística significativa apenas com os tratamentos Nd:YAG2 e Flúor+Nd:YAG2, os quais já obtiveram maior perda de superfície desde o início, continuando os grupos com maior perda nessa fase. Entre os 3 tipos de laser, houve diferença significativa apenas entre Nd:YAG2 e Nd:YAG3. O laser Nd:YAG3, neste caso, não teve diferença significativa com o controle nem com o flúor. No caso do flúor associado ao laser, houve diferença significativa do Flúor+Nd:YAG2 quando comparado com o Flúor+Nd:YAG1 e quando comparado com Flúor+Nd:YAG3, continuando a ser o grupo com maior perda de superfície. O flúor mostrou menor perda de superfície, quando comparado com os demais grupos exceto com grupo controle e laser Nd:YAG3 (Anexo F.2).

No tempo Per-4, após o 3º dia de ciclagem erosiva, o grupo controle apresentou diferença estatística significativa com os tratamentos flúor, Nd:YAG2 e Flúor+Nd:YAG2, sendo o flúor o grupo com menor perda de superfície e o laser Nd:YAG2, associado ou não ao flúor, o grupo com maior perda. O flúor, ainda, mostrou semelhança com o flúor+Nd:YAG3. Mas o flúor foi significativamente diferente dos demais grupos.

Entre os 3 tipos de laser, houve diferença significativa apenas entre Nd:YAG2 e Nd:YAG3. Entre os grupos flúor+laser, houve diferença significativa do Flúor+Nd:YAG2 quando comparado com o Flúor+Nd:YAG1 e quando comparado com Flúor+Nd:YAG3 (Anexo F.3).

Após os 5 dias de ciclagem erosiva (Per-5), o grupo controle também apresentou diferença estatística significativa com os tratamentos flúor, Nd:YAG2, Flúor+Nd:YAG2, continuando o flúor o grupo com menor perda de superfície e o Nd:YAG2 e sua associação com o flúor, os grupos com maior perda. Nesse tempo, o flúor apresentou-se significativamente diferente de todos os outros grupos, sendo ele o grupo que obteve menor perda estrutural. Os 3 protocolos do laser continuaram tendo diferença significativa apenas entre Nd:YAG2 e Nd:YAG3. Quando associou-se o flúor ao laser, houve também diferença significativa do Flúor+Nd:YAG2 quando comparado com o Flúor+Nd:YAG1 e quando comparado com o Flúor+Nd:YAG3 (Anexo F.4).

Em todos os tempos analisados, observou-se que para qualquer um dos 3 tipos de laser, a associação de flúor e laser não se mostrou significativamente diferente em relação ao laser isoladamente.

5.1.2 Análise de um mesmo grupo nos diferentes tempos experimentais

Para todos os grupos, as avaliações perfilométricas apresentaram diferenças significantes entre si ($p < 0,001$, teste de Friedman). Através das comparações múltiplas de Tukey (aplicado aos dados transformados em postos), foi possível verificar aonde as diferenças ocorreram (Gráfico 5.1).

No grupo controle, não houve diferença significativa entre as avaliações Per-1 e Per-2, já que nenhum tratamento foi realizado. À partir do Per-2, houve um aumento progressivo das avaliações, estatisticamente significativa, mostrando evolução da lesão de erosão dental (Anexo G.1).

O grupo flúor também não apresentou diferença significativa entre as avaliações Per-1 e Per-2, mostrando que o flúor não alterou a superfície dental. Foi observado um aumento progressivo das avaliações a partir de Per-2, estatisticamente significativa, mas em menor proporção que o ocorrido no grupo controle (Anexo G.2).

Em relação ao grupos Nd:YAG1, houve um aumento progressivo das avaliações, estatisticamente significativa, já à partir da avaliação Per-2. Assim, pode-se perceber que ocorreu perda estrutural com o tratamento realizado (Anexo G.3).

O mesmo pode ser observado entre os grupos Nd:YAG2 e Nd:YAG3: aumento progressivo das avaliações, estatisticamente significativa, à partir da avaliação Per-2 (Anexos G.4 e G.5).

Também ocorreu nos grupos Flúor + Nd:YAG1 e Flúor + Nd:YAG3 aumento progressivo das avaliações, estatisticamente significativa, já à partir da avaliação Per-2 (Anexos G.6 e G.7).

Entretanto, no grupo Flúor + Nd:YAG2 foi observado um aumento progressivo das avaliações, estatisticamente significativa, somente nas avaliações Per-2 e Per-4. Não houve diferença estatística significativa entre as avaliações Per-2 e Per-3, bem como entre Per-4 e Per-5. A associação do flúor ao Nd:YAG2, portanto, mostrou-se mais efetiva em relação ao impedimento da progressão da lesão de erosão, já que foi mais lenta (Anexo G.8). Entretanto, o laser gerou perda de estrutura já no tratamento. Mesmo com essa diminuição na progressão da lesão de erosão, não foi suficiente para diminuir a perda ocorrida no tratamento.

Assim, os grupos Flúor+Nd:YAG1 e Flúor+Nd:YAG3 tiveram uma progressão semelhante aos grupos laser sem associação de flúor. Porém, o grupo Flúor+Nd:YAG2 teve uma desaceleração da perda entre os tempos de avaliação. Isso não quer dizer que ele é um tratamento bom, já que há grande perda estrutural no momento de sua aplicação.

Gráfico 5.1 - Médias de perdas de superfície de cada grupo em cada momento analisado

5.1.3 Imagens das análises perfilométricas

As imagens mostram a evolução dos grupos no decorrer do tempo.

Figura 5.1 – Imagens ilustrativas do grupo Controle nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento de ciclagem erosiva; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.2 – Imagens ilustrativas do grupo Flúor nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.3 – Imagens ilustrativas do grupo Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.4 – Imagens ilustrativas do grupo Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.5 – Imagens ilustrativas do grupo Nd:YAG3 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.6 – Imagens ilustrativas do grupo Flúor+Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.7 – Imagens ilustrativas do grupo Flúor+Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.8 – Imagens ilustrativas do grupo Flúor+Nd:YAG3 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

5.2 ETAPA 2

Nesta etapa, as amostras foram analisadas em perfilômetro óptico e em microscópio eletrônico de varredura. Os dados obtidos da perfilometria foram estatisticamente analisados, já as micrografias foram analisadas qualitativamente.

5.2.1 Análise Perfilométrica

Análise de variância de medidas repetidas a dois fatores mostraram uma interação significativa entre os tratamentos e os tempos ($p=0,001$). O teste de Tukey demonstrou que após formação da lesão inicial e após tratamentos, não houve diferença significativa na perda de superfície da dentina entre os grupos (Tabela 5.13).

Depois do primeiro dia de ciclagem erosiva, a perda de superfície dos grupos Flúor e Flúor+Nd:YAG1 foi significativamente menor que a perda ocorrida no grupo Nd:YAG2, enquanto que os outros grupos obtiveram valores intermediários. Após o terceiro e quinto dias de ciclagem erosiva, os grupos Flúor, Flúor+Nd:YAG1 e Flúor+Nd:YAG2 apresentaram perda de superfície menor que o grupo controle, o qual não diferiu dos grupos apenas irradiados com laser de Nd:YAG, independentemente da potência utilizada (0,5 ou 0,7W).

Tabela 5.1 - Médias (desvio padrão) da perda de superfície da dentina após formação da lesão inicial e depois dos tratamentos com fluoreto de sódio e/ou laser de Nd:YAG seguido pelos desafios erosivos

Tratamentos	Tempos				
	Lesão Inicial	Tratamento	Primeiro dia ciclagem erosiva	Terceiro dia ciclagem erosiva	Quinto dia ciclagem erosiva
Controle	3.61 (0.72) Aa	3.84 (0.73) Aa	10.82 (1.36) ABb	20.36 (1.80) Bc	24.91 (3.27) Bd
Flúor	3.67 (0.67) Aa	3.89 (0.62) Aa	9.48 (0.75) Ab	14.99 (0.98) Ac	19.44 (2.08) Ad
Nd:YAG1	3.70 (0.65) Aa	3.79 (0.55) Aa	10.72 (1.43) ABb	19.30 (3.16) Bc	25.02 (4.43) Bd
Nd:YAG2	3.77 (0.65) Aa	3.63 (0.31) Aa	11.26 (1.21) Bb	18.92 (3.15) Bc	24.97 (4.34) Bd
Flúor+Nd:YAG1	3.83 (0.64) Aa	3.94 (0.64) Aa	9.79 (0.92) Ab	15.64 (0.67) Ac	19.70 (1.02) Ad
Flúor+Nd:YAG2	3.89 (0.68) Aa	4.00 (0.64) Aa	10.72 (0.80) ABb	15.99 (0.97) Ac	20.62 (1.53) Ad

Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas diferem entre si dentro da mesma coluna. Já médias seguidas por diferentes letras minúsculas diferem entre si dentro da mesma linha.

O gráfico 5.2 retrata o gráfico de linhas da perda de superfície sobre os diferentes tempos, antes e após tratamento da dentina com flúor e/ou laser de Nd:YAG seguido da ciclagem erosiva. Independentemente do tratamento, não houve aumento significativo na perda de superfície entre a lesão inicial e após os tratamentos realizados. O primeiro dia de ciclagem erosiva aumentou significativamente a perda de superfície, que foi seguida por um aumento significativo e constante conforme o avanço dos desafios erosivos.

Gráfico 5.2 - Perda de superfície após formação da lesão inicial e depois dos tratamentos com flúor e/ou laser de Nd:YAG seguido dos desafios erosivos

5.2.2 Imagens das análises perfilométricas

As imagens mostram a evolução dos grupos no decorrer do tempo.

Figura 5.9 – Imagens do grupo Controle nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.10 – Imagens do grupo Flúor nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.11 – Imagens do grupo Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.12 – Imagens do grupo Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.13 – Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG1 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

Figura 5.14 – Imagens do grupo Flúor+Nd:YAG2 nos diversos tempos A. Lesão inicial; B. Tratamento; C. 1 dia de ciclagem erosiva; D. 3 dias de ciclagem erosiva; E. 5 dias de ciclagem erosiva

5.2.3 Análise das imagens da microscopia eletrônica de varredura

Para facilitar a análise das imagens obtidas pela Microscopia Eletrônica de Varredura, foi realizado um quadro com a descrição dos grupos por letras.

Grupos	Descrição
A	Lesão Inicial – controle
B	Flúor
C	Nd:YAG1 (0,5W)
D	Nd:YAG2 (0,7W)
E	Flúor + Nd:YAG1 (0,5W)
F	Flúor + Nd:YAG2 (0,7W)
G	Flúor + 5 dias de ciclagem erosiva
H	Nd:YAG1 (0,5W) + 5 dias de ciclagem erosiva
I	Nd:YAG2 (0,7W) + 5 dias de ciclagem erosiva
J	Flúor + Nd:YAG1 (0,5W) + 5 dias de ciclagem erosiva
K	Flúor + Nd:YAG2 (0,7W) + 5 dias de ciclagem erosiva

Quadro 5.1 - Descrição dos grupos analisados em microscópio eletrônico de varredura

Foram obtidas imagens em dois aumentos (1000 e 3000X) do centro da amostra, abrangendo tanto a área que recebeu os tratamentos quanto a área de referência que foi protegida. As amostras foram avaliadas qualitativamente por meio de observação e descrição das imagens resultantes da microscopia eletrônica de varredura. Todos os grupos de tratamento foram comparados com o grupo em que foi realizada apenas a lesão inicial.

Pode-se observar no grupo A abertura de todos os túbulos dentinários, com fina camada de esfregaço decorrente do polimento realizado e aparência regular. Os túbulos apresentaram forma circular. Quando da aplicação do flúor, o grupo B foi semelhante ao grupo A, não havendo portanto, modificação da superfície com da aplicação do mesmo.

Nas imagens do grupo C, observa-se obliteração parcial de grande parte dos túbulos dentinários que continuam com formato circular e superfície regular. Não houve presença de trincas nem derretimento superficial. O grupo D obteve um corte pouco vantajoso para observação das imagens. Entretanto, pode-se observar uma diminuição do lúmen tubular, com formato circular e superfície regular. Também não ocorreu derretimento ou qualquer trinca superficial.

Os grupos G e F apresentaram uma relativa diminuição dos túbulos dentinários, mas essa ocorrência foi menos visível que os grupos em que houve apenas irradiação com o laser de Nd:YAG. A superfície também apresentou-se como regular, sem trinca ou qualquer outro defeito estrutural.

Mesmo após cinco dias de ciclagem erosiva, o grupo G apresentou túbulos com diâmetros semelhantes aos do grupo controle. Já o grupo H, continuou apresentando túbulos parcialmente obliterados e com o lúmen diminuído. O grupo I apresentou aspecto com túbulos mais fechados, mas não havendo obliteração total dos mesmos. As superfícies dos grupos G, H e I apresentaram-se regular, sem trincas e com túbulos circulares.

Nos grupos em que houve associação do flúor com o laser de Nd:YAG (J e K) também foi observada diminuição dos túbulos dentinários, sem a formação de grânulos de recristalização nem presença de derretimento superficial ou trincas. Além disso, as superfícies continuaram regulares e com túbulos circulares.

5.2.4 Imagens da microscopia eletrônica de varredura

As micrografias apresentam o lado esquerdo no qual foram realizados os procedimentos experimentais. O lado direito foi protegido com a fita adesiva, mostrando uma dentina apenas polida.

Figura 5.15 – Eletromicrografias grupo A (lesão inicial)

Figura 5.16 – Eletromicrografias grupo B (Fluór)

Figura 5.17 – Eletromicrografias grupo C (Nd:YAG1)

Figura 5.18 – Eletromicrografias grupo D (Nd:YAG2)

Figura 5.19 – Eletromicrografias grupo E (Flúor+Nd:YAG1)

Figura 5.20 – Eletromicrografias grupo F (Flúor+Nd:YAG2)

Figura 5.21 – Eletromicrografias grupo G (Flúor + 5 dias de ciclagem erosiva)

Figura 5.22 – Eletromicrografias grupo H (Nd:YAG1 + 5 dias de ciclagem erosiva)

Figura 5.23 – Eletromicrografias grupo I (Nd:YAG2 + 5 dias de ciclagem erosiva)

Figura 5.24 – Eletromicrografias grupo J (Fluor+Nd:YAG1 + 5 dias de ciclagem erosiva)

Figura 5.25 – Eletromicrografias grupo K (Flúor+Nd:YAG2 + 5 dias de ciclagem erosiva)

6 DISCUSSÃO

Muitos trabalhos tem mostrado que lesões de erosão dental estão cada vez mais presentes na população ocidental e estes mostram principalmente a ocorrência dessas lesões em crianças e adolescentes (Lussi, 2006; Lussi et al., 2006; Murakami et al., 2011; Abu-Ghazaleh et al., 2013).

Uma revisão sistemática da prevalência da erosão dental entre crianças e adolescentes realizada por Kreulen et al. (2010), indica que a ocorrência de lesões de erosão em dentina em dentes decíduos aumenta linearmente com a idade, não havendo perda tão extensa na dentição permanente, o que pode ser explicada pela maior resistência desta última. El Aidi et al. (2010), em um estudo longitudinal, em pacientes de 10 a 12 anos e depois aos 15 anos, relatou aumento de 14% na ocorrência da erosão dental em esmalte, havendo também aumento no envolvimento da dentina (22%). Entretanto, estas lesões são observadas em todas as faixas etárias, principalmente as mais expostas a fatores de risco, como por exemplo trabalhadores de indústrias químicas e atletas (Wiegand; Attin, 2007).

Da mesma forma, é importante ressaltar o aumento da longevidade dos dentes na cavidade bucal, a diminuição da perda dental por cárie e a mudança do estilo de vida da população ao longo das décadas. O aumento da quantidade e frequência de consumo de alimentos e bebidas ácidas, associados a fatores comportamentais como a forma de ingestão, ajudam na maior formação de lesões de erosão dental (Lussi et al., 2004; Bartlett, 2005; Lussi et al., 2011).

Cavaldini et al. (2000) descreveram grande mudança nos hábitos alimentares de adolescentes entre 1965 e 1996. Um exemplo abordado foi o consumo de refrigerantes nos Estados Unidos, que aumentou em 300% em 20 anos. Houve ainda um aumento nas porções consumidas: de 185 g nos anos 50 para 340 g nos anos 60 e para 570 g no final dos anos 90. Esse aumento no consumo de refrigerante por dia pode ser associado à presença e à progressão da erosão, principalmente quando existem outros fatores de risco presentes (O'Sullivan; Curzon, 2000; Lussi et al., 2004). Murakami et al. (2011), avaliou indicadores de prevalência e risco para a erosão dental em 967 crianças brasileiras na fase pré-escolar, ou seja, entre 3 e 4 anos. A associação entre esse tipo de lesão e fatores sócio-econômicos, ambientais, nutricionais e comportamentais, além dos fatores relacionados às características da

criança foram analisados. Foi observada alta prevalência de casos de erosão dental nessas crianças, concluindo que o consumo frequente de refrigerantes, o relato de refluxo gastro-esofágico e a idade da criança são indicadores de risco.

É essencial, portanto, a mudança nos hábitos alimentares. Os pacientes devem ser orientados quanto a quantidade e frequência da ingestão de alimentos e bebidas ácidas, assim como a forma de ingestão. Deve-se também orientar a utilizar pasta dental pouco abrasiva e fluoretada e a não escovar os dentes logo após uma refeição ácida (Magalhães et al., 2009; Jokstad, 2012; Lin et al., 2013).

O diagnóstico precoce da erosão dental não é muito comum, pois este é baseado apenas na observação clínica da superfície dental, não havendo nenhum dispositivo validado que ajude nessa avaliação (Lussi; Jaeggi, 2008; Kreulen et al., 2010). Além disso, muitos dentistas ainda não estão muito informados sobre esse tipo de lesão e portanto, muitos pacientes também o desconhecem. Assim, é comum o paciente chegar no consultório com lesões de erosão já presentes e com grande perda de estrutura dental. Muitas vezes, o paciente procura tratamento odontológico devido a presença de sintomatologia dolorosa, a chamada hipersensibilidade dentinária.

Dessa forma, seria interessante um tratamento que além de reduzir a dor (seja pelo bloqueio da entrada dos túbulos dentinários ou pela interferência na transmissão neural) possa controlar a progressão da lesão de erosão. Com base nisso, em um primeiro momento, foram testados protocolos do laser de Nd:YAG já utilizados clinicamente no tratamento da hipersensibilidade dentinária e consagrados na literatura, focando na sua eficácia na progressão de lesões de erosão em dentina (Gelskey et al., 1993; Lan; Liu, 1996; Lier et al., 2002; Dilsiz et al., 2010; Lopes; Aranha, 2013).

Entre os lasers de alta potência, o laser de Nd:YAG é considerado “padrão ouro” no tratamento da hipersensibilidade dentinária com resultados positivos na literatura (Gelskey et al., 1993; Lan; Liu, 1996; Lier et al., 2002; Dilsiz et al., 2010; Lopes; Aranha, 2013).

Com relação ao efeito do laser de Nd:YAG na prevenção de lesões de erosão, a literatura reporta alguns estudos (Vlacic et al., 2007; Magalhães et al., 2008; Sobral et al., 2009), entretanto, não foi encontrado nenhum que tenha sido realizado sobre lesões de erosão já existentes, nem mesmo com o uso de outros tipos de laser e diferentes parâmetros de irradiação. Naylor et al. (2006), utilizou o laser de Nd:YAG após imersão em bebidas ácidas, porém, avaliou apenas o seu efeito morfológico,

com o intuito de verificar a eficácia do equipamento no tratamento da hipersensibilidade dentinária sob diversos desafios ácidos. Além disso, poucos estudos avaliaram a perda de superfície irradiada com lasers de alta potência (Magalhães et al., 2008; Magalhães et al., 2009; Steiner-Oliveira et al., 2010). Assim, a primeira etapa deste estudo teve como objetivo avaliar a progressão das lesões de erosão em dentina após o tratamento de lesões iniciais de erosão com protocolos mais altos do laser de Nd:YAG, associados ou não ao fluoreto de sódio.

Avaliando os resultados do presente trabalho, pôde ser observada carbonização e perda tecidual visível no momento do tratamento, com todos os protocolos do laser utilizados. Este fato foi comprovado pela perfilometria. Podemos supor que isso ocorreu devido ao substrato estar desmineralizado e com isso conter maior quantidade de água, fazendo com que o laser seja mais absorvido pela dentina, levando a ablação do tecido. Segundo Zapletalová et al. (2007), a absorção da irradiação laser é influenciada por moléculas de água livres, proteínas e pigmentos presentes nos tecidos. Os autores concluíram que o uso de corantes antes da irradiação permite o uso de energias mais baixas, protegendo a estrutura dental. O corante, entretanto, tem sido utilizado com menor frequência, pois clinicamente pode interferir na estética dental.

Lan et al. (2000), observaram formações de crateras com o uso de energias entre 100 e 150 mJ com o laser de Nd:YAG e que altas taxas de repetição (20-30 Hz) geram carbonização da superfície dentinária, concluindo que este laser é capaz de ablacionar a dentina. Foi possível verificar este fato no presente estudo, já que houve grande perda estrutural após irradiação com o laser, mesmo com energias mais baixas (70 mJ e 50 mJ) e taxa de repetição de 10 Hz. Avaliando os resultados da primeira etapa deste estudo, observamos diferenças estatisticamente significantes entre os tempos Per-1 e Per-2, mostrando claramente a ablação do laser de Nd:YAG. Isso pode ser devido ao fato da estrutura irradiada neste estudo conter maior quantidade de matéria orgânica, sendo ablacionada com energia menor que a necessária para ablacionar uma dentina íntegra.

Um estudo *in vitro* utilizando os lasers de Er:YAG e de Er,Cr:YSGG em diferentes protocolos, observou carbonização e rachaduras nas dentinas irradiadas com densidades de energias mais altas, além de resultar em túbulos dentinários mais abertos (Aranha; Eduardo, 2012). Apesar de serem outros tipos de lasers e da análise

realizada ser diferente, podemos fazer uma comparação com os protocolos utilizados com o laser de Nd:YAG no presente estudo.

Pode-se relacionar também a grande perda de estrutura dental decorrente do tratamento dos diferentes protocolos do laser de Nd:YAG ao fato de as amostras não terem ficado em saliva após formação da lesão. A saliva é composta por matéria orgânica (proteínas e glicoproteínas) e inorgânica (minerais, como cálcio e fosfato), sendo saturada em relação ao dente (Buzalaf et al., 2012). Após um desafio erosivo, a saliva age de forma reparadora, fornecendo minerais, principalmente cálcio e fosfato possibilitando uma remineralização e consequente aumento da microdureza superficial (Featherstone; Lussi, 2006). Assim, a estrutura dental clinicamente não encontra-se tão amolecida quanto provavelmente estavam as amostras do presente estudo. Além disso, podemos supor que a presença da película adquirida, composta por diversas proteínas (Lamkin; Oppenheim, 1993; Featherstone; Lussi, 2006), pode agir como uma proteção contra o efeito ablativo do laser, o que poderia explicar a não ocorrência de carbonização clinicamente.

Ainda, Ganss et al. (2000) mostraram diferenças na susceptibilidade à erosão dental entre as diferentes estruturas dentais. Com isso, a dentina coronária é menos resistente ao ácido do que dentina radicular, sendo as duas dentinas mais resistentes que o esmalte. Podemos relacionar esse fato com a perda estrutural ocorrida na primeira etapa deste estudo após irradiação com energias mais altas do laser de Nd:YAG. Por ter sido utilizada dentina coronária, que apresenta maior quantidade de dentina peritubular e consequentemente maior desmineralização, esta ficou mais susceptível ainda à irradiação e ação ablasiva do laser após sua desmineralização.

De acordo com os resultados da primeira etapa deste trabalho, o grupo flúor+Nd:YAG2 (0,7W) mostrou uma diminuição na progressão da lesão de erosão durante os desafios erosivos entre os tempos Per-2 (pós-tratamento) e Per-3 (após 1 dia de ciclagem erosiva). Vlacic et al. (2007), Sobral et al. (2009) e Rios et al. (2009) também obtiveram resultados positivos da associação do flúor com o laser de Nd:YAG. Porém esses estudos foram feitos em esmalte e o primeiro ainda analisou a microdureza da superfície e não a perda superficial. No presente estudo, a diminuição da progressão não foi suficiente para compensar a perda ocorrida com o tratamento. No geral, esse protocolo não foi eficaz, já que no final da ciclagem erosiva este foi o grupo com maior perda de superfície.

A vantagem da irradiação da dentina com o laser de Nd:YAG é sua ação na superfície, modificando-a de forma a deixá-la mais ácido-resistente e obliterando os túbulos dentinários. Com protocolos adequados, o aumento de temperatura gera derretimento e ressolidificação, com presença de grânulos de cristalização e formação de estruturas mais estáveis e resistentes (Naylor et al., 2006). Lee et al. (2002), mostraram que durante a irradiação do laser de Nd:YAG, há vaporização de substância orgânica, formando uma dentina livre de porosidades, devido a ocorrência de derretimento e re-solidificação, portanto, apresentando uma estrutura mais resistente. Os autores concluíram que energias adequadas são capazes de reduzir a permeabilidade dentinária. O trabalho de Aranha et al. (2005) corrobora com estes resultados mostrando diminuição da permeabilidade dentinária após irradiação com os lasers de Nd:YAG e Er:YAG.

Outro efeito do aumento de temperatura causado pelo laser de Nd:YAG na superfície dental é o bactericida (Rooney et al., 1994). O laser pode ser utilizado com o intuito de descontaminar bolsas periodontais (Gold; Vilardi, 1992; Pinero, 1998) e canais radiculares (Aun et al., 1999; Berkiten et al., 2000), tendo efeitos positivos na eliminação bacteriana. Assim, pode ser acrescentado aqui o efeito benéfico desse laser em uma possível descontaminação da superfície dentinária erodida.

Levando-se em consideração que os protocolos utilizados neste estudo são provenientes de trabalhos da literatura para o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical, com resultados positivos no controle da dor ao longo de meses de acompanhamento clínico (Lopes; Aranha, 2013), pode-se sugerir os mesmos para a irradiação de dentina não desmineralizada em pacientes que apresentam dor. O objetivo seria o de bloquear túbulos dentinários e impedir a progressão da lesão de erosão. Entretanto, os mesmos protocolos utilizados em uma dentina exposta erodida, mais amolecida e desmineralizada não está indicada por realizar ablação, causar carbonização e não prevenir de forma efetiva a progressão da lesão de erosão, de acordo com os resultados obtidos neste estudo.

Pensando em protocolos mais conservadores, ou seja, com energias mais baixas e protocolos abaixo do limiar de ablação, portanto, com menor chance de causar danos e perdas estruturais, foi realizada a segunda etapa deste trabalho. Este teve por objetivo avaliar a eficácia desses novos protocolos na progressão da lesão de erosão dental, por meio da perfilometria óptica, e também avaliar qualitativamente,

por meio da microscopia eletrônica de varredura, sua eficácia na obliteração dos túbulos dentinários.

Nessa etapa do trabalho, diferente da anterior, não houve diferença estatística entre as leituras Per-1 e Per-2, mostrando que não houve perda de estrutura dental após os tratamentos realizados. Com isso, verificamos que energias mais baixas do laser de Nd:YAG não causam danos em dentina desmineralizada, podendo ser utilizadas sobre essa superfície. Em relação à progressão da lesão de erosão, o laser de Nd:YAG foi eficaz apenas quando associado ao flúor, mas não diferiu estatisticamente do flúor quando este foi utilizado isoladamente. O mesmo ocorreu no trabalho de Magalhães et al. (2008), em que o grupo do flúor associado ao laser teve menor perda estrutural mas não teve diferença em relação ao gel de flúor fosfato acidulado usado isoladamente.

O trabalho de Steiner-Oliveira et al. (2010) também não encontrou efeito protetor do laser de CO₂ quando o mesmo foi utilizado na prevenção de lesões de erosão. Além do laser de alta potência ser diferente, este foi utilizado em uma superfície íntegra e não com a lesão inicial formada como no presente estudo. Porém, da mesma forma, houve uma tendência da associação do flúor mais laser ser o protocolo mais eficaz que o flúor utilizado isoladamente, mas esta não foi estatisticamente significativa.

Diversos estudos mostram resultados positivos do uso de fluoretos na progressão da erosão dental (Wiegand et al., 2009b; Schlueter et al., 2010; Venasakulchai et al., 2010). A ação do flúor está ligada principalmente a precipitação de fluoreto de cálcio na superfície erodida (Ganss et al., 2004). Porém, sua eficácia é controversa, já que esse depósito decorrente da aplicação tópica de flúor pode ser dissolvido rapidamente após ingestão de bebidas ácidas ou ciclagem erosiva (Wiegand; Attin, 2003; Ganss et al., 2007).

O uso de fluoretos com íons metálicos polivalentes tem mostrado maior eficácia, devido a esses íons serem capazes de ligar firmemente aos cristais de apatita e ao conteúdo orgânico, sendo mais resistentes a ação dos ácidos (Wiegand et al., 2010; Ganss et al., 2010). O gel de fluoreto de sódio foi usado no presente estudo devido a sua presença nas clínicas odontológicas e por ser utilizado e consagrado na prevenção da cárie dental.

Nas duas etapas deste trabalho, foi verificada a ação positiva do flúor no decorrer da ciclagem erosiva, havendo melhor resultado do fluoreto de sódio na

proteção da dentina erodida mesmo após o quinto dia de desafio ácido. Ganss et al. (2001, 2004), observaram tanto *in vitro* quanto *in situ*, melhor ação do flúor na diminuição da progressão de lesões de erosão em dentina.

No estudo de Ganss et al. (2001), foi observado que o uso de flúor frequente conseguiu diminuir a progressão da erosão em dentina quase que completamente durante os dias experimentais. O flúor, nas duas etapas do presente estudo, foi utilizado apenas por um minuto e mesmo assim conseguiu diminuir a progressão da erosão. Pode-se então discutir que talvez essa diminuição poderia ser mais eficaz com aumento do tempo ou frequência de aplicação do flúor.

Fluoretos como o fluoreto de sódio e fluoreto de estanho podem reduzir a hipersensibilidade dentinária, provavelmente devido a precipitação de fluoreto de cálcio insolúvel dentro dos túbulos, diminuindo a permeabilidade dentinária como observado *in vitro* por Greenhill e Pashley (1981). Nas imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura no presente estudo não foi possível verificar a diminuição ou selamento efetivo dos túbulos dentinários após tratamento com flúor.

Analizando qualitativamente as micrografias realizadas, estas mostram uma diminuição do lúmen dos túbulos dentinários e parcial bloqueio da entrada destes, nos grupos em que houve irradiação com laser de Nd:YAG, principalmente associado ao flúor. Estudos apontam que para eficácia no tratamento da hipersensibilidade dentinária, não é necessário que haja completa obliteração dos túbulos, mas sim diminuição suficiente para que o estímulo não consiga movimentar o fluido dentinário (Berman, 1985; Naylor et al., 2006). Com isso, podemos supor que os protocolos aqui testados seriam eficazes no tratamento desta sintomatologia.

Alguns autores ainda propõem que o laser de Nd:YAG tem efeito no nervo pulpar devido a interações fototérmicas e/ou fotoquímicas entre o laser e o tecido irradiado. Parece que o laser provoca um bloqueio da transmissão neural interferindo no mecanismo da bomba de sódio e potássio, alterando a permeabilidade da membrana celular das fibras nervosas e/ou alterando temporariamente as terminações dos axônios sensoriais (Myers; McDaniel, 1991; Yonaga et al., 1999; Kimura et al., 2000). A irradiação com o laser de Nd:YAG pode bloquear tanto as fibras de condução rápida ($A\beta$) quanto as de condução lenta (C), parecendo provável a diminuição em todas as categorias de sensibilidade, podendo produzir um tipo não específico de anestesia (Orchardson et al., 1997). Assim, mesmo que os túbulos

dentinários não fiquem selados, o laser continua tendo ação no tratamento da hipersensibilidade dentinária.

Nos grupos em que houve associação do flúor com o laser, o fluoreto de sódio foi aplicado antes da irradiação do laser de Nd:YAG, como ocorreu em outros estudos (Vlacic et al., 2007; Magalhães et al., 2008; Steiner-Oliveira et al., 2010). Acredita-se que a irradiação após aplicação do flúor, aumenta a absorção do mesmo no tecido dental além da incorporação deste pela hidroxiapatita formando fluorapatia (Tagomori; Morioka, 1989).

Em relação aos métodos de análises utilizados no presente estudo, foi escolhido o perfilômetro óptico pois este permite maior resolução da imagem em relação ao perfilômetro de contato. Além disso, permite mensurar uma superfície em 3D de forma rápida e exata, sem que haja contato com a mesma. Com o software específico do equipamento é possível calcular a profundidade da lesão, a área de superfície e o volume da perda dental quando superfícies de referências estão presentes (Rodriguez et al., 2012). Com isso, é possível fazer várias leituras num mesmo espécime sem que haja interferência em sua superfície, o que foi importante no presente estudo, já que foram feitas leituras longitudinais durante o tratamento e desafios erosivos.

O perfilômetro é um método que pode ser usado para analisar perda de superfície com grande precisão, desde que essa perda exceda 0,4 μm . Entretanto, para que haja precisão do método é necessário um polimento bem feito, deixando as amostras bem planas, para não haver interferência da curvatura inicial no resultado (Attin, 2006). Por esse motivo, no presente estudo, foram selecionadas amostras com curvatura máxima de 0,3 μm , valor que não interferiria em lesões iniciais obtidas entre 2-5 μm .

Segundo Attin (2006), para análise qualitativa das alterações ocorridas em uma superfície após desafios erosivos é indicada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) ou microscopia eletrônica de varredura ambiental. O segundo, tem a vantagem de não ser destrutivo, porém a resolução da imagem obtida é mais baixa. Esses métodos podem ser feitos em superfícies polidas ou não polidas. Por termos utilizados a MEV e a perfilometria na segunda etapa do trabalho, as amostras utilizadas para análise qualitativa deste também foram polidas, para que pudéssemos reproduzir superfícies semelhantes, não permitindo interferência de diferentes superfícies nos resultados.

Os dois métodos escolhidos para análises deste trabalho, estão de acordo com Schlueter et al. (2011), que ao revisarem os métodos de avaliação e caracterização da erosão dental, concluíram que estágios mais avançados dessas lesões tem sido analisados principalmente pela perfilometria e que alterações morfológicas da superfície tem sido comumente avaliadas pela MEV.

As imagens resultantes da microscopia eletrônica de varredura foram analisadas qualitativamente, por meio de observação e comparação das imagens. Essa mesma metodologia de análise foi utilizada por Naylor et al. (2006) e por Palazon et al. (2013).

Mesmo diante de protocolos que podem efetivamente controlar a progressão da erosão dental, é necessário ressaltar que os fatores predisponentes para esta lesão e, conseqüentemente, para a hipersensibilidade dentinária, devem ser removidos independente da estratégia de tratamento a ser realizada, seja pelo uso de enxaguatórios fluoretados, pela aplicação de verniz ou géis de flúor, uso de lasers de alta potência ou até mesmo restauração da estrutura dental perdida (Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity, 2003; Orchardson; Gillam, 2006; Aranha, 2013). Portanto, redução na dieta ácida e instrução de higiene oral de pacientes com hipersensibilidade dentinária devem ser incluídos como parte do tratamento padrão desta doença (Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity, 2003). Entretanto, Lin et al. (2013) relataram que existem poucos trabalhos na literatura que abordam esses conselhos.

É importante considerar o nível da erosão dental presente e portanto, a severidade da exposição dentinária, assim como a presença da hipersensibilidade dentinária para decidir o melhor tratamento a ser utilizado. Pode se concluir então que o uso de protocolos conservadores, baseados em evidências científicas, do laser de Nd:YAG pode ser utilizado de forma segura e efetiva na proteção da estrutura dental contra a erosão e no tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical. Além disso, a sua associação com fluoretos pode aumentar a eficiência dos tratamentos.

Estudos longitudinais *in situ* seriam uma excelente opção de trabalhos a serem realizados para observar o efeito de terapias no controle da progressão das lesões de erosão dental, no qual, a presença de saliva e formação de película adquirida poderiam fornecer condições ideais, simulando a condição oral.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nas duas etapas deste trabalho, e, dentro das limitações de um estudo *in vitro*, pode-se concluir que:

1. Os protocolos do laser de Nd:YAG, associados ou não ao flúor, testados na primeira etapa não são adequados para serem utilizados em uma dentina erodida, pois geram ablação da mesma.
2. O laser de Nd:YAG quando utilizado com densidades de energias mais baixas em uma dentina erodida, não geram perda de estrutura dental.
3. A associação do flúor a protocolos conservadores do laser de Nd:YAG tem efeito protetor na progressão das lesões de erosão em dentina.
4. O grupo que diminuiu eficazmente a progressão das lesões de erosão foi o grupo com tratamento gel de fluoreto de sódio (2%). Resultado este obtido nas duas etapas deste trabalho, sendo portanto eficaz no tratamento da erosão dental.
5. Os parâmetros do laser de Nd:YAG utilizados em uma dentina íntegra, tem efeito diferente quando utilizado em uma dentina erodida.

REFERÊNCIAS¹

Abu-Ghazaleh SB, Burnside G, Milosevic A. The prevalence and associated risk factors for tooth wear and dental erosion in 15- to 16-year-old schoolchildren in Amman, Jordan. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2013 Feb;14(1):21-7.

Addy M, Shellis RP. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci, 20) p.17-31.

Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *Journal of Dentistry*. 2005;33:243-52.

Aranha ACC. Estado atual do conhecimento sobre o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical com lasers de baixa e alta potência [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013.

Aranha ACC, Domingues F, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo CP. Effects of Er:YAG and Nd:YAG laser on dentin permeability in root surfaces. An in vitro preliminar study. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(5):504-8.

Aranha AC, Eduardo CP. In vitro effects of Er,Cr:YSGG laser on dentine hypersensitivity. Dentine permeability and scanning electron microscopy analysis. *Lasers Med Sci*. 2012;27(4):827-34.

Attin T. Methods for assessment of dental erosion. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci, 20) p.152-72.

Attin T, Knöfel S, Buchalla W, Tütüncü R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res*. 2001;35:216-22.

Aun CE, Barberini AF, Camargo SCC, Kfoury LS, Simionato MRL. Bactericidal effects of Nd:YAG laser intracanal irradiation in endodontics. *Lasers Dent*. 1999 May 19;22:22-6.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Austin RS, Rodriguez JM, Dunne S, Moazzez R, Bartlett DW. The effect of increasing sodium fluoride concentrations on erosion and attrition of enamel and dentine in vitro. *Journal of Dentistry*. 2010;38:782-87.

Bartlett DW. The role of erosion in tooth wear: aetiology, prevention and management. *Int Dent J*. 2005;4(Suppl1):277-84.

Bartlett DW. Intrinsic causes of erosion. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci, 20) p.119-39.

Bartlett DW, Shah P. A critical review of non-carious cervical (wear) lesions and the role of abfraction, erosion, and abrasion. *J Dent Res*. 2006;85(4):306-12.

Bassiouny MA, Yang J. Influence of drinking patterns of carbonated beverages on dental erosion. *Gen Dent*. 2005;53:205-21.

Berkiten M, Berkiten R, Okar I. Comparative evaluation of antibacterial effects of Nd:YAG laser in root canals and dentinal tubules. *J Endod*. 2000;26(5):268-70.

Brannström M, Linden LA, Åström A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. *Caries Res*. 1967;1:310-17.

Buzalaf MAR, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci*. 2012;20(5):493-502.

Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc*. 2003;69(4):221-8.

Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RM, Mendes FM, De P Eduardo C. In vitro evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. *Photomed Laser Surg*. 2007;25(2):85-90.

Cavaldini C, Siega-Riz AM, Popkin BM. US adolescent food intake trends from 1965 to 1996. *Arch Dis Child*. 2000;83:18-24.

Dilber E, Malkoc MA, Ozturk AN, Ozturk F. Effect of various laser irradiations on the mineral content of dentin. *European Journal of Dentistry*. 2013;7:74-80.

Dilsiz A, Aydin T, Canakci V, Gungormus M. Clinical evaluation of Er:YAG, Nd:YAG, and diode laser therapy for desensitization of teeth with gingival recession. *Photomed Laser Surg.* 2010;28(Suppl 2):S11-7.

Eccles JD. Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. *Dent Update.* 1982;9:373.

El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC, Truin GJ. Dynamics of tooth erosion in adolescents: a 3-year longitudinal study. *J Dent.* 2010 Feb;38(2):131-7.

Featherstone JDB, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci 20) p.66-76.

Ganss C, Klimek J, Brune V, Schumann A. Effects of two fluoridation measures in erosion progression on enamel and dentin in situ. *Caries Res.* 2004;38:561-6.

Ganss C, Klimek J, Lussi A. Accuracy and consistency of the visual diagnosis of exposed dentine on worn occlusal/incisal surfaces. *Caries Res.* 2006;40:208-12.

Ganss C, Klimek J, Schäffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 2001;35:325-30.

Ganss C, Klimek J, Schwarz N. A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. *Arch Oral Biol.* 2000;45:897-902.

Ganss C, Lussi A, Sommer N, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine. *Caries Res.* 2010;44:248-52.

Ganss C, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N. Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res.* 2009;43:422–429.

Ganss C, Schlueter N, Klimek J. Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions-a comparison of in vitro and in situ results. *Archives of Oral Biology.* 2007;52:9-14.

Gao XL, Pan JS, Hsu CY. Laser-fluoride effect on root demineralization. *J Dent Res*. 2006;85:919-23.

Gelskey SC, White JM, Pruthi VK. The effectiveness of the Nd:YAG laser in the treatment of dental hypersensitivity. *J Can Dent Assoc*. 1993 Apr;59(4):377-8, 383-6.

Gholami GA, Fekrazad R, Esmail-Nejad A, Kal-hori KA. An evaluation of the occluding effects of Er:Cr:YSGG, Nd:YAG, CO₂ and diode lasers on dentinal tubules: a scanning electron microscope in vitro study. *Photomed Laser Surg*. 2011;29:115-21.

Gold SI, Vilardi MA. Effect on the Nd:YAG laser curettage on gingival crevicular tissues. *J Dental Res*. 1992;71:299.

Gray JA. Kinetics of the dissolution of human dental enamel in acid. *J Dent Res*. 1962;41:633-45.

Greenhill JD, Pashley DH. The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. *J Dent Res*. 1981 Mar;60(3):686-98.

Grossman LI. A systematic method for the treatment of hypersensitive dentin. *Journal of American Dental Association*. 1935;22:11.

Hanning C, Hanning M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci*. 2005;113:2-13.

Hanning M, Balz M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res*. 1999;33:372-9.

Hara AT, Ando M, Cury JA, Serra MC, González-Cabezas C, Zero DT. Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. *Caries Res*. 2005;39:134-8.

Hara AT, González-Cabezas C, Creeth J, Zero DT. The effect of human saliva substitutes in an erosion–abrasion cycling model. *Eur J Oral Sci*. 2008;116: 552-6.

Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci 20) p.88-99.

Hellwig E. Fluoride retention in dentin after topical application of aminefluoride. *J Dent Res.* 1992;71:1558-60.

Holland GR, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *Journal of Clinical Periodontology.* 1997;24:808-13.

Ireland AJ, McGuinness N, Sherriff M. An investigation into the ability of soft drinks to adhere to enamel. *Caries Res.* 1995;29:470-6.

Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr in Oral Sci 20) p.44-65.

Jansson C, Wallander MA, Johansson S, Johnsen R, Hveem K. Stressful psychosocial factors and symptoms of gastroesophageal reflux disease: a population-based study in Norway. *Scand J Gastroenterol.* 2010;45:21-9.

Johansson AK, Lingström P, Birkhed D. Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. *Eur J Oral Sci.* 2002;110:204-11.

Jokstad A. The effectiveness of lasers to reduce dentinal hypersensitivity remains unclear. *J Evid Based Dent Pract.* 2012;12 (3 Suppl):231-2.

Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(10):715-21.

Kinney JH, Balooch M, Haupt DL Jr, Marshall SJ, Marshall GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res.* 1995;74(5):1179-84.

Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res.* 1994;73:1523-29.

Kreulen CM, Van't Spijker A, Bronkhorst EM, Creugers NHJ, Bartlett DW. Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. *Caries Res.* 2010;44:151-9.

Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res.* 2006;40(2):148-53.

Lamkin MS, Oppenheim FG. Structural features of salivary function. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4:251-9.

Lan WH, Chen KW, Jeng JH, Lin CP, Lin SK. A comparison of the morphological changes after Nd:YAG and CO₂ laser irradiation of dentin surfaces. *J Endodontics.* 2000;26(8):450-3.

Lan WH, Lee BS, Liu HC, Lin CP. Morphologic study of Nd:YAG laser usage in treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endodontics.* 2004;30(3):131-4.

Lan WH, Liu HC. Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1996;14(2):89-92.

Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999;33:81-7.

Laufer B, Mayer I, Gedalia I, Deutsch D, Kaufman HW, Tal M. Fluoride-uptake and fluoride-residual of fluoride-treated human root dentine in vitro determined by chemical, scanning electron microscopy and X-ray diffraction analyses. *Arch Oral Biol.* 1981;26:159-63.

Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG laser. *Lasers in Surgery and Medicine.* 2002;30:246-52.

Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle – a review. *Adv Dent Res.* 2000;14:22-8.

Lier BB, Rosing CK, Aass AM, Gjermo P. Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. *J Clin Periodontol.* 2002;29(6):501-6.

Lin PY, Cheng YW, Chu CY, Chien KL, Lin CP, Tu YK. In-office treatment for dentin hypersensitivity: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2013;40:53-64.

Lopes, AO, Aranha ACC. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and desensitizer agente on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. *Photomed Laser Surg.* 2013;31(3):132-8.

Luoma H. Fluoride, magnesium and dental caries. Current aspects. *Proc Finn Dent Soc.* 1986;82:290-7.

Lussi A. Erosive tooth wear – a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci 20) p.1-8.

Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am J Dent.* 2006 Dec;19(6):319-25.

Lussi A, Jaeggi T. Erosion – diagnosis and risk factors. *Clin Oral Invest.* 2008;12(Suppl 1):S5-S13.

Lussi A, Jaeggi T. Extrinsic causes of erosion. Diet. Chemical factors. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci 20) p.77-87.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38:34-44.

Lussi A, Megert B, Shellis RP, Wang X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr.* 2012 Jan;107(2):252-62.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion - an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011;45(suppl 1):2-12.

MacDonald AV, Claffey NM, Pearson GJ, Blau W, Setchell DJ. The effect of Nd:YAG radiation at nanosecond pulse duration on dentine crater depth. *Biomaterials.* 2002;23:51-8.

Magalhães AC, Rios D, Machado MAAM, Silva SMB, Lizarelli RFZ, Bagnato VS. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. *Photomedicine and Laser Surgery.* 2008;26(6):559-63.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MAR. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(2):75-86.

Mahoney E, Beattie J, Swain M, Kilpatrick N. Preliminary in vitro assessment of erosive potential using the ultra-micro-indentation system. *Caries Res.* 2003; 37:218-24.

Matsumoto K, Funai H, Shirasuka T, Wakabayashi H. Effects of Nd:YAG laser in treatment of cervical hypersensitive dentine. *Japan J Conserv Dent.* 1985;85:760-5.

Meurman JH, Frank RM. Scanning electron microscope of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res.* 1991;25:1-6.

Meurman JH, Hemmerle J, Voegel JC, Rauhamaa-Makinen R, Luomanen M. Transformation of hydroxiapatite by irradiation with high-energy CO₂ laser. *Caries Res.* 1997;31:397-400.

Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 1996;104:199-206.

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Effect of various Ca²⁺/PO₄(³⁻) concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel in vitro. *J Oral Rehabil.* 2006;33:760-6.

Murakami C, Oliveira LB, Sheiham A, Nahás Pires Corrêa MS, Haddad AE, Bönecker M. Risk indicators for erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Caries Res.* 2011;45(2):121-9.

Myers TD, McDaniel JD. The pulsed Nd:YAG dental laser: review of clinical applications. *J Calif Dent Assoc.* 1991;19(11):25–30.

Naylor FV, Aranha ACC, Eduardo CP, Arana-Chavez VE, Sobral MAP. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acid beverages. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(6):745-54.

Oliveira AS, Damascena NP; Souza CS. Análise clínica de pacientes portadores de lesões cervicais não cariosas e sua relação com hábitos. *Rev Sul-Bras Odontol.* 2010 Jun;7(2):182-92.

Orchardson R, Gillam DG. Managing dentin hypersensitivity. J Am Dent Assoc. 2006;137(7):990-8.

Orchardson R, Peacock JM, Whitters CJ. Effect of pulsed Nd:YAG laser radiation on action potential conduction in isolated mammalian spinal nerves. Lasers Surg Med. 1997;21:142-8.

O'Sullivan EA, Curzon ME. A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. ASDC J Dent Child. 2000;67(3):186-92.

Palazon MT, Scaramucci T, Aranha AC, Prates RA, Lachowski KM, Hanashiro FS. Immediate and short-term effects of in-office desensitizing treatments for dentinal tubule occlusion Photomed Laser Surg. 2013;31(6):274-82.

Pancote LP, Manarelli MM, Danelon M, Delbem ACB. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion: in vitro study. Arch Oral Biol. 2014;59:336-40.

Pinero J. Nd:YAG – assisted periodontal curettage to prevent bacteria before cardiovascular surgery. Dent Today. 1998 Mar;17(3):84-7.

Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Delbem ACB, Machado MAAM, Silva SMB. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ ex vivo study. Caries Res. 2006;40:218-23.

Rios D, Magalhães AC, Machado MAAM, Silva SMB, Lizarelli RFZ, Bagnato VS, Buzalaf MAR. In vitro evaluation of enamel erosion after Nd:YAG laser irradiation and fluoride application. Photomed Laser Surg. 2009;27(5):743-8.

Rodriguez JM, Austin RS, Bartlett DW. A method to evaluate profilometric tooth wear measurements. Dental Mater J. 2012; 28(3):245-51.

Rooney J, Midda M, Leeming J. A laboratory investigation of the bactericidal effect of a Nd:YAG laser. Br Dent J. 1994;176(2):61-4.

Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. Scand J Dent Res. 1988;96:523-35.

Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Frank NE, Hara AT. Sodium fluoride effect on erosion–abrasion under hyposalivatory simulating conditions. *Arch Oral Biol.* 2013;58:1457-63.

Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MAP. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent.* 2011;39:841-8.

Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res.* 2011;45(S1):13-23.

Schlueter N, Neutard L, Hinckeldey JV, Klimek J, Ganss C. Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro. *Acta Odontologica Scandinavica.* 2010;68:180-4.

Sobral MAP, Lachowski KM, Rossi W, Braga SRM, Ramalho KM. Effect of Nd:YAG laser and acidulated phosphate fluoride on bovine and human enamel submitted to erosion/abrasion or erosion only: an in vitro preliminary study. *Photomed Laser Surg.* 2009;27(5):709-14.

Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A, Netto NG. Influence of the liquid acid diet on the development of dental erosion. *Pesqui Odontol Bras.* 2000;14(4):406-10.

Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, Zero DT, Eckert G, Hara AT. Effect of a pulsed CO₂ laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. *Arch Oral Biol.* 2010;55:127-33.

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

ten Cate JM, Buijjs MJ, Damen JJ. pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentration of fluoride. *Eur J Oral Sci.* 1995;103:362-7.

ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996;104:241-4.

Venasakulchai A, Williams NA, Gracia LH, Rees GD. A comparative evaluation of fluoridated and non-fluoridated mouthrinses using a 5-day cycling enamel erosion model. *J Dent.* 2010;38(3):21-9.

Vlacic J, Meyers IA, Walsh LJ. Laser activated fluoride treatment of enamel as prevention against erosion. *Austr Dent J.* 2007;52(3):175-80.

West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil.* 2000;27:875-80.

White AJ, Jones SB, Barbour ME, Churchley DR, Gracia LH, Rees GD. Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: evidence for a dose-response. *J Dent.* 2012;40:654-60.

Whitters CJ, Creanor SL, Moseley H, Gilmour WH, Strang R, Saunders WP, Orchardson R. A clinical study of pulsed Nd:YAG laser-induced pulpal analgesia. *J Dent.* 1995;23:145-50.

Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions – a review. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1:245-53.

Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med (Lond).* 2007;57:169-76.

Wiegand A, Bichsel D, Magalhães AC, Becker K, Attin T. Effect of sodium, amine and stannous fluoride at the same concentration and different pH on in vitro erosion. *J Dent.* 2009a;37:591-5.

Wiegand A, Magalhães AC, Attin T. Is titanium tetrafluoride (TiF₄) effective to prevent carious and erosive lesions? A review of the literature. *Oral Health Prev Dent.* 2010;8:159-64.

Wiegand A, Magalhães AC, Sener B, Waldheim E, Attin T. TiF₄ and NaF at pH 1.2 but not at pH 3.5 are able to reduce dentin erosion. *Arch Oral Biol.* 2009b;54:790-5.

Wood I, Jawad Z, Paisley C, Brunton P. Non-carious cervical tooth surface loss: A literature review. *J Dent.* 2008 Oct;36(10):759-66.

Yonaga K, Kimura Y, Matsumoto K. Treatment of cervical dentin hypersensitivity by various methods using pulsed Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17(5):205-10.

Zapletalová Z, Perina J, Novotný R, Ková HC. Suitable conditions for sealing of open dentinal tubules using a pulsed Nd:YAG laser. *Photomed Laser Surg.* 2007;25(6):495-9.

Zero DT, Lussi A. Etiology of enamel erosion – intrinsic and extrinsic factors; in tooth wear and sensitivity. London: Martin Dunitz; 2000. p.121-39.

Zero DT, Lussi A. Behavioral factors. In: Lussi A, editor. *Dental erosion*. Basel: Karger; 2006. (Monogr Oral Sci, 20) p.100-5.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Análise da progressão de lesões de erosão após irradiação com laser de Nd:YAG

Pesquisador: Ana Cecilia Correa Aranha

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 14981713.7.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 317.635

Data da Relatoria: 26/06/2013

Apresentação do Projeto:

O trabalho irá avaliar, através da perfilometria ótica, a progressão das lesões de erosão após terapia com laser de Nd:YAG e flúor. Serão utilizados 120 terceiros molares humanos, cujas raízes serão separadas das coroas. As amostras de dentina serão incluídas em resina acrílica e após serem preparadas serão induzidas a formarem erosão ácida in vitro, as amostras serão inseridas duas vezes ao dia durante 5 dias, em 80 ml de solução de ácido cítrico 0,05M (Ácido cítrico monohidratado ζ C₆H₈O₇ . H₂O); M=210,14g/mol) pH 2,3 em temperatura ambiente por 20 minutos. Após este período, acredita-se na formação de uma lesão de erosão. Dessa forma, será realizada a segunda leitura pelo perfilômetro das lesões de erosão formadas (Per-2). Com as lesões existentes, as amostras serão então separadas em 8 grupos (n=15): G1. controle (sem tratamento), G2: Flúor fosfato acidulado (F), G3: Nd:YAG (Power LaserTM ST6, Lares Research), - em modo contato, pulsado, focalizado, perpendicular, fibra de 400 μ m (L) (protocolo 1: 0,5W/10Hz, 10s, 50J, 41,66J/cm²), G4: Nd:YAG (protocolo 2: 0,75W/10Hz, 10s, 75J, 62,50J/cm²), G5: Nd:YAG (protocolo 3: 1W/10Hz, 10 s, 50J, 83,33J/cm²), G6: (F) +L1, G7: (F) +L2, G8: (F) +L3. Após os tratamentos, os grupos serão submetidos a novos desafios ácidos, para que as amostras sejam avaliadas ao final do 3º e 5º desafios (Per-3 e Per-4, respectivamente). Após ciclagem, a fita adesiva será removida e

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Análise quantitativa e qualitativa da progressão da lesão de erosão em dentina após irradiação com laser Nd:YAG e sua associação com flúor

Pesquisador: Samira Helena João de Souza

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 30278314.6.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 658.987

Data da Relatoria: 23/05/2014

Apresentação do Projeto:

Avaliar a progressão de lesões de erosão em dentina após tratamento com laser de Nd:YAG com protocolos mais conservadores, serão utilizados 90 terceiros molares humanos íntegros, doados pelo Banco de Dentes da FOU SP. Das faces oclusas dos dentes serão obtidos 93 fragmentos quadrados de dentina que serão incluídos em resina acrílica que serão polidas deixando as superfícies planas e paralelas. Deste total 60 espécimes com curvatura de até 3mm, serão analisados em Perfilômetro Óptico, para determinação da profundidade da lesão nos seguintes tempos: após lesão inicial, após tratamentos, após o primeiro, terceiro e quinto dias de ciclagem. Trinta e três espécimes serão utilizados para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV), após lesão inicial, após tratamentos e após último dia de ciclagem, para verificar a eficácia desses tratamentos na obliteração dos túbulos dentinários. As amostras ficarão 10 minutos em ácido cítrico 1%, pH~2,3, para formar lesão de erosão inicial. Após os tratamentos, os espécimes passarão por 5 dias de ciclagem erosiva, que consistirá de 3 minutos em ácido cítrico 1% (pH~2,3) e 60 minutos em saliva artificial, 6 vezes por dia, em temperatura ambiente. Os valores obtidos na análise perfilométrica serão submetidos à análise estatística para determinação da homogeneidade e normalidade da amostra e então será escolhido o teste estatístico mais adequado para a comparação entre os grupos experimentais realizados. Já as imagens obtidas pela MEV serão

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

ANEXO C – Estatísticas resumo da etapa 1, por análise perfilométrica e por grupo de tratamento (dados originais, não transformados em postos)

Variável	Grupos	N	Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
Per-1	Controle	15	3,258	0,531	2,152	3,302	4,151
	Flúor	14	3,604	0,558	2,780	3,613	5,026
	Flúor + Nd:YAG 1	14	2,834	0,500	1,957	2,831	3,926
	Flúor + Nd:YAG 2	11	3,639	0,587	2,936	3,440	4,788
	Flúor + Nd:YAG 3	14	3,737	0,812	2,783	3,462	5,312
	Nd:YAG 1	14	3,012	0,392	2,217	2,954	3,576
	Nd:YAG 2	13	3,550	0,582	2,758	3,406	4,356
	Nd:YAG 3	11	3,409	0,421	2,655	3,442	4,013
Per-2	Controle	15	3,258	0,531	2,152	3,302	4,151
	Flúor	14	3,466	0,617	2,638	3,401	4,980
	Flúor + Nd:YAG 1	14	6,591	3,405	2,454	5,945	14,016
	Flúor + Nd:YAG 2	11	21,49	11,77	8,27	16,69	42,41
	Flúor + Nd:YAG 3	14	9,41	6,07	3,16	6,66	20,40
	Nd:YAG 1	14	5,061	1,341	3,335	4,639	7,416
	Nd:YAG 2	13	14,85	5,37	5,22	16,00	22,47
	Nd:YAG 3	11	6,19	4,70	3,37	4,03	16,92
Per-3	Controle	15	9,130	1,060	7,697	9,017	11,198
	Flúor	14	8,494	1,197	7,212	7,923	10,983
	Flúor + Nd:YAG 1	14	11,712	3,441	7,615	11,520	18,050
	Flúor + Nd:YAG 2	11	23,85	11,78	11,86	17,17	42,88
	Flúor + Nd:YAG 3	14	14,45	8,57	5,81	9,53	30,17
	Nd:YAG 1	14	11,249	1,463	9,858	10,500	14,309
	Nd:YAG 2	13	19,97	5,89	10,36	20,64	32,52
	Nd:YAG 3	11	11,09	4,07	8,10	9,76	20,80
Per-4	Controle	15	17,533	1,716	14,626	17,208	20,866
	Flúor	14	14,172	0,994	12,165	13,951	15,868
	Flúor + Nd:YAG 1	14	17,97	4,08	12,92	17,56	25,46
	Flúor + Nd:YAG 2	11	35,09	13,70	18,89	33,69	56,75
	Flúor + Nd:YAG 3	14	20,52	9,57	12,33	14,78	38,93
	Nd:YAG 1	14	20,828	2,227	18,296	19,872	25,415
	Nd:YAG 2	13	28,80	6,72	17,11	29,24	40,59
	Nd:YAG 3	11	19,75	5,55	15,65	17,80	32,82
Per-5	Controle	15	23,026	2,292	19,760	22,318	27,662
	Flúor	14	18,392	1,568	15,663	18,452	20,797
	Flúor + Nd:YAG 1	14	23,37	4,85	17,63	22,77	33,47
	Flúor + Nd:YAG 2	11	41,56	14,39	24,94	41,57	62,38
	Flúor + Nd:YAG 3	14	26,68	12,29	16,21	19,33	53,25
	Nd:YAG 1	14	27,591	2,587	24,601	26,956	31,303
	Nd:YAG 2	13	37,05	8,47	22,70	37,50	55,94
	Nd:YAG 3	11	25,82	7,00	20,85	23,50	43,82

ANEXO D – Estatísticas resumo da etapa 1, por análise perfilométrica e por grupo de tratamento (dados transformados em postos em cada análise perfilométrica, para a comparação entre os grupos)

Variável	Grupos	N	Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
Per-1	Controle	15	49,13	29,31	3,00	54,00	94,00
	Flúor	14	67,36	25,91	16,00	77,50	104,00
	Flúor + Nd:YAG 1	14	25,43	23,98	1,00	18,00	89,00
	Flúor + Nd:YAG 2	11	68,18	24,23	27,00	66,00	103,00
	Flúor + Nd:YAG 3	14	66,79	30,83	17,00	67,00	106,00
	Nd:YAG 1	14	34,43	24,22	4,00	26,50	75,00
	Nd:YAG 2	13	62,92	31,78	14,00	60,00	100,00
	Nd:YAG 3	11	59,09	27,57	9,00	67,00	90,00
Per-2	Controle	15	18,93	12,79	1,00	16,00	43,00
	Flúor	14	23,57	15,18	4,00	22,50	55,00
	Flúor + Nd:YAG 1	14	54,57	26,55	2,00	61,00	83,00
	Flúor + Nd:YAG 2	11	92,27	12,41	74,00	93,00	106,00
	Flúor + Nd:YAG 3	14	64,79	26,66	13,00	65,50	99,00
	Nd:YAG 1	14	50,36	15,80	18,00	52,00	71,00
	Nd:YAG 2	13	86,92	12,68	60,00	90,00	101,00
	Nd:YAG 3	11	48,73	22,64	20,00	40,00	94,00
Per-3	Controle	15	33,40	15,96	8,00	31,00	62,00
	Flúor	14	21,86	18,68	4,00	12,50	60,00
	Flúor + Nd:YAG 1	14	52,14	28,12	6,00	63,50	87,00
	Flúor + Nd:YAG 2	11	88,55	14,95	65,00	85,00	106,00
	Flúor + Nd:YAG 3	14	50,6	40,0	1,0	39,5	102,0
	Nd:YAG 1	14	59,14	10,94	45,00	56,50	77,00
	Nd:YAG 2	13	85,62	14,56	52,00	89,00	103,00
	Nd:YAG 3	11	46,36	23,70	18,00	42,00	90,00
Per-4	Controle	15	43,67	13,71	22,00	41,00	68,00
	Flúor	14	16,86	8,51	1,00	16,00	32,00
	Flúor + Nd:YAG 1	14	43,79	27,69	4,00	44,00	82,00
	Flúor + Nd:YAG 2	11	88,55	17,62	58,00	96,00	106,00
	Flúor + Nd:YAG 3	14	42,6	40,9	2,0	22,5	100,0
	Nd:YAG 1	14	65,93	10,06	52,00	63,50	81,00
	Nd:YAG 2	13	84,77	16,73	40,00	89,00	102,00
	Nd:YAG 3	11	51,91	21,40	30,00	47,00	95,00
Per-5	Controle	15	43,67	14,46	23,00	38,00	71,00
	Flúor	14	14,71	9,46	1,00	14,50	30,00
	Flúor + Nd:YAG 1	14	43,43	25,54	9,00	42,50	84,00
	Flúor + Nd:YAG 2	11	86,91	18,42	58,00	94,00	106,00
	Flúor + Nd:YAG 3	14	43,9	40,5	2,0	22,0	102,0
	Nd:YAG 1	14	67,50	9,95	54,00	67,50	81,00
	Nd:YAG 2	13	85,23	15,66	44,00	90,00	104,00
	Nd:YAG 3	11	52,64	20,93	31,00	49,00	98,00

ANEXO E - Estatísticas resumo da etapa 1, por grupo de tratamento e análise perfilométrica (dados transformados em postos em cada grupo, para a comparação entre as análises perfilométricas)

Variável	Perfilometria	N	Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
Controle							
	Per-1	15	15,50	8,94	1,50	15,50	29,50
	Per-2	15	15,50	8,94	1,50	15,50	29,50
	Per-3	15	38,00	4,47	31,00	38,00	45,00
	Per-4	15	53,27	4,92	46,00	53,00	62,00
	Per-5	15	67,73	4,92	59,00	68,00	75,00
Flúor							
	Per-1	14	15,86	8,18	2,00	18,00	28,00
	Per-2	14	13,14	8,35	1,00	12,50	27,00
	Per-3	14	35,50	4,18	29,00	35,50	42,00
	Per-4	14	49,57	4,31	43,00	49,50	57,00
	Per-5	14	63,43	4,31	56,00	63,50	70,00
Nd:YAG1							
	Per-1	14	7,93	4,80	1,00	7,50	16,00
	Per-2	14	21,07	4,95	11,00	21,50	28,00
	Per-3	14	35,50	4,18	29,00	35,50	42,00
	Per-4	14	49,86	4,93	43,00	49,50	61,00
	Per-5	14	63,14	4,61	56,00	63,50	70,00
Nd:YAG2							
	Per-1	13	7,00	3,89	1,00	7,00	13,00
	Per-2	13	23,46	7,31	14,00	22,00	36,00
	Per-3	13	32,54	9,96	18,00	33,00	52,00
	Per-4	13	46,38	9,76	27,00	47,00	61,00
	Per-5	13	55,62	8,02	38,00	58,00	65,00
Nd:YAG3							
	Per-1	11	7,55	4,99	1,00	7,00	16,00
	Per-2	11	17,36	8,57	5,00	17,00	34,00
	Per-3	11	27,55	6,31	21,00	26,00	42,00
	Per-4	11	39,18	7,35	31,00	38,00	53,00
	Per-5	11	48,36	3,91	43,00	48,00	55,00
Flúor+Nd:YAG1							
	Per-1	14	9,14	4,94	1,00	9,50	17,00
	Per-2	14	22,00	10,08	4,00	21,50	41,00
	Per-3	14	35,43	8,51	24,00	34,50	51,00
	Per-4	14	50,14	9,40	37,00	49,00	65,00
	Per-5	14	60,79	6,90	49,00	62,00	70,00
Flúor+Nd:YAG2							
	Per-1	11	6,00	3,32	1,00	6,00	11,00
	Per-2	11	25,18	11,48	12,00	21,00	45,00
	Per-3	11	27,91	11,61	15,00	23,00	46,00
	Per-4	11	38,18	11,04	24,00	39,00	53,00
	Per-5	11	42,73	9,62	29,00	44,00	55,00
Flúor+Nd:YAG3							
	Per-1	14	9,43	5,81	1,00	9,00	19,00
	Per-2	14	26,93	15,56	4,00	23,00	54,00
	Per-3	14	38,29	15,80	20,00	30,50	63,00
	Per-4	14	46,86	12,99	33,00	40,00	67,00
	Per-5	14	56,00	9,63	44,00	52,50	70,00

ANEXO F – Tabelas comparativas dos grupos de tratamento em cada momento (dados transformados em postos).

1 - Comparações múltiplas entre os grupos de tratamento, na avaliação Per-2

Grupos de tratamento	Média dos postos (Per-2)	Comparações múltiplas de Tukey ²
comparação entre os grupos ¹ : $p < 0,001$		
Controle	18,9	D
Flúor	23,6	D
Nd:YAG1	50,4	C
Nd:YAG2	86,9	A B
Nd:YAG3	48,7	C
Flúor+Nd:YAG1	54,6	C
Flúor+Nd:YAG2	92,3	A
Flúor+Nd:YAG3	64,8	B C

¹Teste de Kruskal-Wallis; ²grupos que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes.

2 - Comparações múltiplas entre os grupos de tratamento, na avaliação Per-3

Grupos de tratamento	Média dos postos (Per-3)	Comparações múltiplas de Tukey ²
comparação entre os grupos ¹ : $p < 0,001$		
Controle	33,4	C D
Flúor	21,9	D
Nd:YAG1	59,1	B C
Nd:YAG2	85,6	A B
Nd:YAG3	46,4	C D
Flúor+Nd:YAG1	52,1	C
Flúor+Nd:YAG2	88,6	A
Flúor+Nd:YAG3	50,6	C

¹Teste de Kruskal-Wallis; ²grupos que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

3 - Comparações múltiplas entre os grupos de tratamento, na avaliação Per-4

Grupos de tratamento	Média dos postos (Per-4)	Comparações múltiplas de Tukey ²		
comparação entre os grupos ¹ : p<0,001				
Controle	43,7		B	
Flúor	16,9			C
Nd:YAG1	65,9	A	B	
Nd:YAG2	84,8	A		
Nd:YAG3	51,9		B	
Flúor+Nd:YAG1	43,8		B	
Flúor+Nd:YAG2	88,6	A		
Flúor+Nd:YAG3	42,6		B	C

¹Teste de Kruskal-Wallis; ²grupos que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

4 - Comparações múltiplas entre os grupos de tratamento, na avaliação Per-5

Grupos de tratamento	Média dos postos (Per-5)	Comparações múltiplas de Tukey ²	
comparação entre os grupos ¹ : p<0,001			
Controle	43,7	B	
Flúor	14,7		C
Nd:YAG1	67,5	A	B
Nd:YAG2	85,2	A	
Nd:YAG3	52,6		B
Flúor+Nd:YAG1	43,4		B
Flúor+Nd:YAG2	86,9	A	
Flúor+Nd:YAG3	43,7		B

¹Teste de Kruskal-Wallis; ²grupos que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

ANEXO G – Tabelas comparativas de cada grupo de tratamento ao longo do tempo (dados transformados em postos).

1 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Controle

Análise	Média dos postos (Controle)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	15,5	D
Per-2	15,5	D
Per-3	38,0	C
Per-4	53,3	B
Per-5	67,7	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

2 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Flúor

Análise	Média dos postos (Flúor)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	15,9	D
Per-2	13,1	D
Per-3	35,5	C
Per-4	49,6	B
Per-5	63,4	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

3 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Nd:YAG1

Análise	Média dos postos (Nd:YAG1)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	7,9	E
Per-2	21,1	D
Per-3	35,5	C
Per-4	49,9	B
Per-5	63,1	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

4 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Nd:YAG2

Análise	Média dos postos (Nd:YAG2)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	7,0	E
Per-2	23,5	D
Per-3	32,5	C
Per-4	46,4	B
Per-5	55,6	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

5 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Nd:YAG3

Análise	Média dos postos (Nd:YAG3)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	7,5	E
Per-2	17,4	D
Per-3	27,5	C
Per-4	39,2	B
Per-5	48,4	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes.

6 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Flúor+Nd:YAG1

Análise	Média dos postos (Flúor+Nd:YAG1)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	9,1	E
Per-2	22,0	D
Per-3	35,4	C
Per-4	50,1	B
Per-5	60,8	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

7 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Flúor+Nd:YAG3

Análise	Média dos postos (Flúor+Nd:YAG3)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	9,4	E
Per-2	26,9	D
Per-3	38,3	C
Per-4	46,9	B
Per-5	56,0	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes

8 - Comparações múltiplas entre as análises perfilométricas, para o grupo Flúor+Nd:YAG2

Análise	Média dos postos (Flúor+Nd:YAG2)	Comparações múltiplas de Tukey²
comparação entre as análises ¹ : $p < 0,001$		
Per-1	6,0	C
Per-2	25,2	B
Per-3	27,9	B
Per-4	38,2	A
Per-5	42,7	A

¹Teste de Friedman; ²análises que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes.