UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia de Bauru

JULIANA JULIANELLI DE ARAÚJO

Efeito da irradiação laser associada à aplicação tópica de fluoreto sobre o esmalte submetido à erosão e/ou abrasão

BAURU
2012

JULIANA JULIANELLI DE ARAÚJO

Efeito da irradiação laser associada à aplicação tópica de fluoreto sobre o esmalte submetido à erosão e/ou abrasão

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Odontopediatria.

Orientador: Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado.

BAURU
2012

Araújo, Juliana Julianelli de

Ar15e Efeito da irradiação laser associada à aplicação
tópica de fluoreto sobre o esmalte submetido à erosão
e/ou abrasão. – Bauru, 2012.

126 p. : il. ; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de
Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida de
Andrade Moreira Machado

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos
fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Juliana Julianelli de Araújo

Nascimento	13 de janeiro de 1979
Naturalidade	Bauru – SP
Filiação	Nelson Correia de Araújo Elizabeth Julianelli
1997-2001	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade do Sagrado Coração – USC – Bauru – São Paulo
2001-2003	Curso de Especialização em Odontologia em Saúde Coletiva pelo Hospital de Reabilitação em Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo.
2004-2005	Curso de aperfeiçoamento em Saúde Coletiva pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
2005-2007	Curso de pós-graduação em Odontologia, nível Mestrado, Área de Concentração Saúde Coletiva, pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
2008-2012	Curso de pós-graduação em Odontologia, nível Doutorado, Área de Concentração Odontopediatria, pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
2011-2012	Curso de Aperfeiçoamento em Tratamento Endodôntico: Instrumentação Rotatória.

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Dedico esta etapa vitoriosa da minha vida à minha amada mamãe,

Elizabeth Julianelli

A quem agradeço a vida, e a quem eu dedico minha vida!

Obrigada por estar do meu lado quando eu preciso. De me criticar quando estou errada. De me abraçar quando me sinto fraca e vulnerável.

Obrigada por conversar quando preciso desabafar. E de me abrir os olhos quando eles se fecham para tudo e para todos.

Obrigada por falar sempre as coisas que preciso ouvir, você sabe exatamente o quê e quando preciso ouvi-las.

Obrigada por se importar comigo. E por dizer que me ama.

Obrigada por continuar do meu lado quando estou chata e implicante.

Obrigada por não me ignorar quando estou insuportável.

Obrigada por confiar em mim. Por contar comigo. Por me fazer sentir útil.

Obrigada por tentar sempre me mostrar os caminhos certos e torná-los mais suaves.

Obrigada por toda a ajuda que me dá desde o dia em que sai de seu ventre!

Mãe... vencedores nunca desistem e quem desiste nunca vence... e com certeza nós duas juntas conseguimos vencer todos os obstáculos que a vida nos deu!

Mãe... sou muito feliz por ser tua Filha!

Meu amor por você é incondicional!

Ao amado marido

João Pereira Araújo Filho

Meu eterno amigo, meu eterno Amor.

A partir do momento em que você surgiu em minha vida, me tornei uma pessoa mais

calma, segura e madura, aprendi a ouvir e falar menos

Obrigada por fazer aflorar o que há de melhor em mim.

Obrigada pelo seu carinho, incentivo e seu positivismo.

Obrigada por amenizar as mais árduas jornadas de trabalho.

Obrigada por me presentear com a mais pura vida que esta prestes a chegar!

*Nossa linda filhinha **Ana Júlia!!!***

Agradecimentos

Especiais

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, que por meio da fé, me dá forças para lutar ilumina meu caminho, mostra-me o verdadeiro sentido da vida e me faz acreditar que nada é impossível quando a causa é justa e a vontade verdadeira. Agradeço por confortar o meu coração nas horas mais difíceis, pela coragem e objetivos alcançados, por me fazer acreditar que tudo é possível quando se tem fé!

Agradeço as pessoas mais importantes de minha vida, onde sem elas não conseguiria alcançar meus objetivos!

Ao meu amado vovô,

José Julianelli (in memoriam)

*Este homem com olhar austero, sempre pronto e atento,
mostrando-me o caminho da vida, que está pela frente.*

*Este mestre e contador de histórias
traz em seu coração tantas lembranças e memórias,
espalha no meu caminhar muitas esperanças,
certezas e confianças para um futuro.*

*Este homem alegre e brincalhão, às vezes, silencioso e pensativo,
homem de fé e de grande responsabilidade e luta,
sensível, generoso e amigo.*

*O abraço aconchegante a me acolher, este homem,
é você vovô, meu velho e grande amigo, conselheiro e amigo leal, infinito é teu coração. Fez papel de pai e de mãe, de avô e de avó, companheiro em toda minha vida, que me supriu com todas minhas necessidades, meu herói, com quem aprendo a viver!*

*Obrigado, vizinho, por orientar o meu caminho,
feito de lutas e incertezas, mas também de muitas esperanças, alegrias e sonhos!!!!*

AMO-TE COM TODO MEU CORAÇÃO!

Ao meu pai

Nelson Correia de Araújo

Ao longo da minha caminhada tive que aprender não ter sua presença constante em minha vida, o que não foi fácil, mesmo porque, tínhamos um laço de pai e filha muito grande. Mas a vida continuou e...

Aprendi que nada é como a gente quer...

Aprendi que nada, ninguém e nem a distância poderá separar nossas vidas...

Obrigada pelos momentos felizes que me proporcionaste nestes anos que convivemos juntos!

Te amo muito!

Meu amado tio,

Mário Julianelli (in memoriam)

Gostaria que estivesse ao meu lado neste momento tão importante da minha vida, o qual sem o senhor não seria possível chegar até aqui!

Voz de experiência que me inspirou na luta pelos meus ideais. Obrigada pelo exemplo de vida e por me fazer acreditar que nenhum obstáculo pode ser maior que a vontade de vencer!

Quando fecho os olhos sinto sua presença constante em minha vida, sempre me auxiliando nos momentos mais difíceis.

Obrigada por tudo!

Minha amada tia,

Maria de Lourdes Razeira Julianelli

Obrigada pelas orações, pelo carinho, preocupação, e também por estar sempre ao meu lado.

Obrigada pela dedicação e por todos os esforços em me proporcionar uma vida feliz.

Suas palavras me estimulam a seguir em frente e a acreditar num futuro abençoado.

Agradeço a Deus por fazer parte da minha vida!

Agradeço vocês por tudo que me proporcionaram até hoje do fundo do meu coração!

Amo vocês!

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

SER PROFESSOR!!!!

*“É professar a fé e a certeza de
que tudo terá valido a pena se o aluno sentir-se feliz
pelo que aprendeu com você e pelo que ele lhe ensinou...
É buscar dentro de cada um de nós forças para prosseguir, mesmo com toda pressão, toda
tensão, toda falta de tempo...
É conhecer os limites do outro. E, ainda assim, acreditar que ele seja capaz...
Ser professor é importar-se com o outro numa
dimensão de quem cultiva uma planta muito rara que
necessita de atenção, amor e cuidado...
É participar profundamente do crescimento social...
“É também reconhecer que somos, acima de tudo, seres humanos, e que temos licença para rir,
chorar, esbravejar”.*

***À minha orientadora e vice diretora Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado,** pelo exemplo de determinação, empreendedorismo, amor e dedicação à profissão, pelos ensinamentos, pelas tantas oportunidades, pelo profissionalismo como pesquisadora, cirurgiã dentista e gestora e por ser um grande ser humano. Com certeza todos os seus ensinamentos seguirão comigo por toda minha vida!!*

***À Profa. Dra. Daniela Rios,** estava terminando meu mestrado quando a encontrei no laboratório de bioquímica, você estava estudando para o concurso de odontopediatria da FOB/USP, chegando em casa contei à minha mãe que havia uma aluna super inteligente na bioquímica e que estava estudando para passar em um concurso, pedi que colocasse seu nome nas orações pois seria muito importante para faculdade ter uma professora com seu perfil. Enfim, nem imaginava que iria fazer doutorado no odontopediatria e ter como professora quem eu tanto admirava!!! Obrigada pelo seu carinho, pelos seus ensinamentos, pelo seu apoio, paciência e sua amizade sem os quais eu definitivamente não conseguiria alcançar este sonho que hoje se realiza!*

***À Profa. Dra. Thais Marchini de Oliveira,** ao ensinar você soube despertar minha admiração pela sua competência, dedicação e simplicidade, agradeço por transmitir seus conhecimentos e experiências, pelo apoio e incentivo em todas as etapas deste curso, obrigada por me fazer sentir uma pessoa de valor.*

***À Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva,** muitos mestres passam por nossa vida, mediando o conhecimento, abrindo portas, mostrando caminhos! Agradeço por sua dedicação e ensinamentos transmitidos, pela seriedade e competência com que executa seu trabalho.*

***Ao Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira Lima,** pelo carinho, pelas oportunidades, conversas sinceras, conselhos, troca de experiência e aprendizados. A você minha admiração e meu respeito!!!!*

Ao Prof. Dr. Ruy César Camargo Abdo, pelo exemplo de professor e ser humano!!!

À Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf, por ter me estendido às mãos no momento em que mais precisei e que estava desamparada. Se hoje estou aqui, foi porque me apoiou e me incentivou a iniciar em uma área que eu sempre desejei a Odontopediatria!!!!

Ao Prof. Dr. Heitor Marques Honório pela grande ajuda com a estatística deste trabalho. Obrigada pela sua disponibilidade, paciência e pelos seus sábios conselhos. Admiro muito seu profissionalismo!!!

À minha querida amiga, Adriana Regina Colombo Pauleto, agradeço por ter entrado na Odontopediatria, pois foi nela que construiu uma verdadeira amizade, pessoa especial que surgiu no meu caminho, foram vários obstáculos que passamos juntas, muitas tristezas e muitas alegrias também, amiga tudo na vida da gente tem um propósito e acho que minha missão nesta vida era te conhecer, você é mais que uma amiga é a irmã que sempre pedi a Deus, obrigada por sempre estar comigo em todos os momentos de minha vida, e pode ter certeza que sempre estarei com você também!!!!

À minha querida amiga Melissa Thiemi Kato, nos conhecemos há nove anos e sempre que precisamos uma da outra estamos dispostas a ajudar, você é um exemplo para mim, obrigada por sempre me socorrer quando eu mais preciso!!!!

Aos meus amigos Thiago e Agnes, mesmo distante tenho um carinho enorme por vocês!!!!

À minha querida amiga e psicóloga, Sandra M. Pirola Bezerra, pela amizade, pela disponibilidade, pelo carinho e incentivos permanentes, pela dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

*Aos amigos do doutorado e mestrado, **Adriana, Marco, Ana Lúcia, Akio, Carla, Natalino, Tatiane, Aninha, Susy, Sileide, Soraia, Gabriel, Catarina, Nádia, Gabriela, Flávia, Vanessa, Janaína, Ane e Maysa**, que trouxeram a minha vida muitos momentos de amizade e descontração, meus sinceros agradecimentos pela amizade e companheirismo durante todo curso.*

*Aos funcionários e ex-funcionários do Departamento de Odontopediatria da FOB-USP, **Fátima, Dona Lia, Estela, Lilian, Lourisvalda, Tia Maria e Alexandre** pela atenção, por cada sorriso e pelo carinho com que me receberam. **Dona Lia, Estela, Lilian e Fátima** por toda atenção e carinho durante o curso. Foi de grande valia seus conselhos e ensinamentos, que várias vezes me conduziram a como proceder em algumas situações, onde acabamos nos tornando amigas e pode ter certeza que meu carinho por vocês é muito grande, realmente são pessoas muito especiais. Muito obrigada!*

Aos funcionários da Pós-Graduação, e do Serviço de Biblioteca da FOB-USP, por serem muito prestativos e estarem sempre dispostos a ajudar.

À Faculdade de Odontologia de Bauru, aos mestres e funcionários, por fazerem parte do meu processo de amadurecimento, formação de caráter e por ter permitido fazer parte do seu grupo discente.

*Aos funcionários do laboratório de Bioquímica da FOB-USP, **Telma, Ovídio e Larissa**, pela disposição e carinho com que me auxiliaram durante a realização desta pesquisa.!!!*

*À funcionária **Camila Medina**, sempre pronta para ajudar, obrigada pela disponibilidade em melhorar minhas figuras!!!*

*Aos funcionários e professores do L'ELLO, em especial ao **Prof. Dr. Ricardo S. Navarro** pela maneira alegre com que sempre me recebeu, pela acessoria e disponibilidade durante o desenvolvimento desse trabalho! A parceria com vocês foi essencial para o desenvolvimento desse trabalho!*

*À **CAPES**, pelo apoio financeiro concedido!*

Impossível é deixar de agradecer a todos os que, de maneira direta ou indireta, foram de igual modo importantes, contribuindo com um sorriso, um olhar amigo, uma palavra de estímulo, mas que indubitavelmente, propiciaram-me condições de prosseguir e concluir este trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!

*“Bom mesmo é ir a luta com determinação,
abraçar a vida e viver com paixão, perder com
classe e vencer com ousadia, pois o
triunfo pertence a quem se atreve...
e a vida é muito para ser insignificante”*

Charles Chaplin

*“Só existem dois dias do ano em que nada pode ser feito:
um se chama ontem e o outro, amanhã.*

*Portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e,
principalmente, viver.”*

Dalai Lama

RESUMO

A aplicação do laser sobre o esmalte associada ou não a aplicação tópica de fluoreto têm demonstrado aumentar sua resistência à ação de ácidos. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da irradiação laser de alta potência associada à aplicação de fluoretos sobre o esmalte dentário submetido à erosão e/ou abrasão dentária. Para tal, 184 blocos de esmalte foram selecionados pela microdureza de superfície (SMH inicial) e foram divididos em 8 grupos com 23 espécimes cada (3 foram utilizados para realização da biópsia básica da superfície de esmalte dentário, 10 foram submetidos à erosão e os outros 10 à erosão associada à abrasão): G1- sem tratamento (controle); G2- tratamento com flúor fosfato acidulado (1,23% F) por 4 min; G3- verniz fluoretado; G4- irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G5- aplicação de flúor fosfato acidulado e posterior irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G6- aplicação de flúor fosfato acidulado e prévia irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G7- aplicação de verniz fluoretado e posterior irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G8- aplicação de verniz fluoretado e prévia irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²). Após os tratamentos, os blocos submetidos à ciclagem erosiva sofreram 4 imersões diárias em bebida ácida com pH 2,6, 0,32 ppm F (Coca-Cola Company, Spal, Porto Real, RJ, Brasil), por 2 min, seguida pela imersão em solução remineralizadora por 2 h, durante 5 dias. Nos blocos submetidos à erosão associada à abrasão, uma vez ao dia após cada ciclo, os espécimes foram submetidos à abrasão com 40 ciclos de escovação simulada com força de 2,5 N. Os blocos de esmalte foram avaliados por meio da perfilometria. Os resultados foram submetidos à ANOVA a um (biópsia básica) e dois critérios (perfilometria) e Teste de Tukey ($p < 0,05$). Todos os grupos de tratamento promoveram menor desgaste dentário em relação ao controle, sendo que entre eles, a irradiação laser promoveu o pior resultado ($p < 0,05$). Os grupos de tratamento com fluoreto resultaram em maior concentração de flúor no esmalte na biópsia básica ($p < 0,05$). Em todos os grupos estudados, a erosão promoveu menor desgaste dentário quando comparada a erosão associada à abrasão ($p < 0,05$). Conclui-se o laser apresenta efeito preventivo menor que os fluoretos, quando se trata de erosão associada ou não à abrasão. Além disso, quando a irradiação laser é associada a aplicação de fluoretos não há efeito sinérgico.

Palavras chave: erosão dentária, laser, fluoreto.

ABSTRACT

Effect of laser irradiation associated with topic application of fluoride on sound enamel submitted to erosion and/or abrasion.

The laser application on enamel associated or not to the topic fluoride have been showed to increase the resistance to acid action. This study aimed to evaluate the effect of high intensity laser irradiation submitted to dental erosion and/or abrasion. Hence, 184 enamel samples were selected by surface microhardness (initial SMH) and then divided into 8 groups with 23 specimens each (3 were selected to routine biopsy of enamel surface, 10 submitted to erosion procedure and another 10 were submitted to erosion associated to abrasion): G1 – without treatment (control group); G2 – treated with acidic phosphate for 4 min (1.23% F); G3 – fluoride varnish; G4 - irradiation with Nd:YAG laser (56.6 J/cm²) ; G5 - acidic phosphate fluoride with posterior irradiation with Nd:YAG laser (56.6 J/cm²) ; G6 – application of acidic phosphate fluoride with previous irradiation of Nd:YAG laser (56,6 J/cm²); G7- application of fluoride varnish with posterior laser irradiation with Nd:YAG laser (56,6 J/cm²); G8- application of fluoride varnish with previous irradiation of Nd:YAG laser (56,6 J/cm²). After the treatments, the samples were submitted to erosive cycling with 4 diary immersions in acidic beverages with pH 2.6, 0.32 F ppm (Coca-Cola Company, Spal, Porto Real, RJ, Brasil) for 2 min followed by remineralized solution for 5 days. To groups submitted to erosive associated to abrasion, once a day after each cycling, the specimens were submitted to abrasion with 40 simulated brushing cycles with power of 2.5 N. The enamel samples were evaluated by profilemetry. The results were submitted to one way (routine biopsy) and two way (profilometry) ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$). All the groups demonstrated a wear dental decrease in relation to control group, and among them, the laser irradiation promoted the worst outcome ($p < 0.05$). The groups related to fluoride resulted in increase concentration of fluoride in the enamel routine biopsy ($p < 0.05$). To all groups, the erosion promoted a decrease of dental wear when compared to erosion associated to abrasion ($p < 0.05$). It can be concluded that the laser presented a minor preventive effect when compared to fluoride treatment, when is related to erosion associated or not to abrasion. Furthermore, when irradiation is associated to fluoride application there was not a synergic effect.

Key words: dental erosion, laser, fluoride.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Máquina de corte.....	61
Figura 2 - Bloco de esmalte obtido de coroa dental bovina	61
Figura 3 - Politriz.....	61
Figura 4 - Planificação da dentina	61
Figura 5 - Realização da endentação inicial dos blocos em microdurômetro com ponta Knoop	63
Figura 6 - Sequência de proteção dos blocos com esmalte de unha cosmético	63
Figura 7 - Flúor Fosfato Acidulado 1,23%	64
Figura 8 - Verniz de Fluoreto de Sódio a 5%.....	65
Figura 9 - Aparelho do laser de Nd:YAG	66
Figura 10 - Carvão vegetal	66
Figura 11 - Desmineralização dos blocos por refrigerante ácido.....	68
Figura 12 - Remineralização dos blocos em saliva artificial	68
Figura 13 - Máquina de escovação.....	68
Figura 14 - Escova macia modelo Colgate Twister Fresh®.....	69
Figura 15 - Dentifrício Colgate Total 12 Clean Mint®	70
Figura 16 - Perfilômetro acoplado ao computador.....	71
Figura 17 - Ponta apalpadora realizando a leitura do desgaste	71
Figura 18 - Regra de 3 para calculo da massa a ser diluída em água deionizada, para se obter a Molaridade	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões de Flúor para Análise da Biópsia Básica 74

Tabela 2 - Média da perda de esmalte dentário (μm) e desvio padrão
($\pm\text{dp}$) após 5 dias de ciclagem erosiva 78

Tabela 3 - Média da quantidade de Flúor (μg de F/cm^2) e desvio
padrão ($\pm\text{DP}$) 79

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

α	alfa
β	beta
$^{\circ}\text{C}$	grau(s) Celsius
$\pm$	mais ou menos
$\text{\textcircled{R}}$	marca registrada
$>$	maior que
$<$	menor que
μm	micrometro(s)
μs	microsegundo(s)
%	porcentagem
cm	centímetro(s)
cm^2	centímetro(s) quadrado(s)
AmF	fluoreto de amina
CaF_2	fluoreto de cálcio
CO_2	dióxido de carbono
dP	desvio-padrão
Er:YAG	óxido de ítrio e alumínio ($\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$) dopado com érbio (Er^{3+})
F	fluoreto
FA	fluorapatita
FFA	flúor fosfato acidulado
G	grama(s)
H	hora
HÁ	hidroxiapatita
Hz	hertz
<i>In situ</i>	em sítio, no local (no caso, cavidade bucal) (latim)
<i>In vitro</i>	em laboratório (latim)
<i>In vivo</i>	em ser humano (latim)
J/cm^2	joules por centímetro quadrado
KHN	número de dureza knoop

M	mola
Min	minuto(s)
mJ/pulso	miljoule(s) por pulso
mL	mililitro(s)
m ³	metro(s) cúbico(s)
mM	milimolar
mm	milímetro(s)
mm ²	milímetro(s) quadrado(s)
mm ³	milímetro(s) cúbico(s)
ms	milissegundo(s)
n	número de repetições
Nd:YAG	óxido de ítrio e alumínio (Y ₃ Al ₅ O ₁₂) dopado com neodímio (Nd ³⁺)
Ns	nanossegundo(s)
OH ⁻	íon hidroxila
<i>Overnight</i>	durante a noite
pH	potencial hidrogeniônico
ppm	parte(s) por milhão
s	segundo(s)
W	watt(s)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1	Prevalência de erosão dentária	33
2.2	Prevalência de erosão associada abrasão dentária	37
2.3	Prevenção e controle das lesões de erosão dentária	38
2.4	Fluoretos.....	41
2.5	Laser de Alta Potência.....	45
2.6	Associação entre fluoreto e laser de alta potência.....	47
3	PROPOSIÇÃO.....	53
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.1	Delineamento experimental	59
4.2	Obtenção dos dentes e preparo dos blocos de esmalte	60
4.3	Avaliação da Microdureza Superficial Inicial.....	62
4.4	Tratamento dos blocos de esmalte	63
4.5	Protocolo do estudo <i>in vitro</i>	67
4.5.1	Ciclagem Erosiva	67
4.5.2	Erosão e Abrasão	68
4.6	Avaliação do desgaste.....	70
4.7	Biópsia Básica (Remoção do Fluoreto de cálcio).....	72
4.7.1	Preparo do espécime.....	72
4.7.2	Preparo das soluções	72
4.7.3	Realização da Biópsia Básica.....	73
4.8	Análise Estatística.....	74

5	RESULTADOS	75
5.1	Microdureza Inicial	77
5.2	Análise do desgaste superficial.....	77
5.3	Biópsia Básica do esmalte dentário	78
6	DISCUSSÃO.....	81
6.1	Metodologia empregada	83
6.2	Resultados.....	90
7	CONCLUSÕES.....	95
	REFERÊNCIAS	99
	APÊNDICES	117
	ANEXOS.....	121

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

A aplicação de medidas de promoção de saúde bucal e o aumento da expectativa de vida têm contribuído para a manutenção dos elementos dentários (BRASIL SORRIDENTE, 2008; PETERSON; BRATHALL, 1996). Assim, com os novos hábitos alimentares e comportamentais, a perda irreversível de tecido dentário duro de origem não cariosa tem aumentado substancialmente, destacando-se a erosão dentária (JAEggi; LUSSI, 2006).

Erosão dentária é definida como a perda gradual, lenta e irreversível de estrutura dentária provocada por processos químicos sem envolvimento de microorganismos (IMFELD, 1996; ECCLES, 1979; ZERO, 1996; MEURMAN; TEN CATE, 1996; LUSSI; JAEggi; ZERO, 2004; LUSSI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b). A erosão dentária pode ser causada por uma série de fatores extrínsecos e intrínsecos (ECCLES, 1979; MURAKAMI; CORRÊA; RODRIGUES, 2006). Os fatores extrínsecos são resultados da ação de ácidos exógenos provenientes de medicamentos, meio ambiente e da dieta alimentar. O ácido gástrico que entra em contato com os dentes durante a regurgitação ou refluxo gástrico são fatores intrínsecos como resultado da ação do ácido endógeno (ECCLES, 1979; BARATIERI, 2001).

A terminologia “erosão dentária” foi discutida recentemente em um “Workshop”, onde foi dividida em “erosão” e “desgaste dentário erosivo”, permitindo a diferenciação entre os dois aspectos do processo erosivo (SHELLIS et al., 2011; HUYSMANS et al., 2011). O termo erosão deve ser utilizado para a perda da integridade estrutural e resistência mecânica causada pelo efeito do ácido sobre a superfície do dente, ou seja, corresponde apenas a um amolecimento superficial sem perda de estrutura em altura (SHELLIS et al., 2011; HUYSMANS et al., 2011). O desgaste dentário, por sua vez, diz respeito a uma grande perda de estrutura dentária, resultando em desgaste da superfície (SHELLIS et al., 2011; HUYSMANS et al., 2011).

Devido ao maior consumo de bebidas ácidas, em especial os refrigerantes, várias pesquisas têm sido direcionadas ao entendimento da erosão, a fim de

prevenir sua formação ou conter sua progressão (AMAECHI; HIGHAM, 2005; MAGALHÃES et al., 2009b). Uma das principais maneiras de se controlar o fator causal é por meio do aconselhamento dietético (LUSSI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b), o que é visto com dificuldade pela necessidade de mudança do hábito alimentar (LUSSI, 2006; SERRA; MESSIAS; TURSSI, 2009). Assim, uma alternativa para o controle das lesões é a utilização de medidas que aumentem a resistência ácida e favoreçam a remineralização do substrato dentário, tais como a utilização do fluoreto (WIEGAND; ATTIN, 2003).

Para minimizar a perda de estrutura dentária pela erosão, o fluoreto tem sido utilizado em suas diferentes formas de aplicação (gel, dentifrício e solução), antes ou após o ataque erosivo (ATTIN et al., 2004; LUSI et al., 2004; LUSI; JAEGGI; MEGERT, 2004; MAGALHÃES et al., 2007). No entanto, melhores resultados têm sido obtidos com a aplicação de fluoretos em alta concentração, tais como o flúor fosfato acidulado e o verniz fluoretado previamente ao ataque erosivo (WIEGAND; ATTIN, 2003; MAGALHÃES et al., 2011). Apesar de muitos autores (GANSS et al., 2004; LAGERWEIJ et al., 2006; WILLUNSEN et al., 2004) reportarem que o fluoreto age protegendo os dentes contra a erosão, outros autores (LARSEN, 2001; LARSEN; RICHARDS, 2002) questionam sua eficácia, devido ao seu efeito limitado. Por isso, tem-se buscado formas alternativas de prevenir a ocorrência ou progressão da lesão erosiva, entre elas o laser (SOBRAL et al., 2009; VLACIC; MEYERS; WALSH, 2007). Diversos *lasers* de alta potência, por meio do aumento da temperatura da superfície irradiada, podem causar mudanças na estrutura do esmalte e na composição dos cristais (ZEZELL et al., 2009; ANDRADE et al., 2007; ANTUNES et al., 2005, as quais favorecem um aumento na resistência do esmalte à desmineralização (FOWLER; KURODA, 1986). Assim, podem ser utilizados na prevenção da cárie com eficácia (ZEZELL et al., 2009; ANDRADE et al., 2007; ANTUNES et al., 2005) e possivelmente, na prevenção da erosão.

O comprimento de onda do laser Nd:YAG ($\lambda = 1064 \text{ nm}$) não é efetivamente absorvida pelo esmalte dentário (coeficiente de absorção é menor que $4 \times 10^{-2} \text{ cm}^{-1}$) (FOWLER; KURODA, 1986; FEATHERSTONE, 2000), ao contrário do que acontece com os tecidos pigmentados. Portanto o uso de foto absorvente antes de sua irradiação em tecidos dentários duros é relatado (JENNETT et al., 1994; HESS, 1990). O objetivo da aplicação de uma tinta foto absorvente antes da irradiação laser

é para aumentar a absorção do feixe de laser pela superfície de esmalte. Boari et al., (2009) demonstraram que a pasta de carvão promove uma absorção superficial do laser Nd:YAG e não pigmenta a superfície de esmalte permanentemente, sendo indicada como um foto absorvente efetivo. Além disso, os autores mostraram que a irradiação a laser com $84,9 \text{ J/cm}^2$ é um parâmetro seguro para ser utilizado clinicamente, pois o aumento de temperatura pulpar provocado está dentro dos limites aceitáveis. Este mesmo parâmetro foi utilizado em estudo clínico, com controle de um ano, apresentando resultados favoráveis na prevenção da cárie dentária (ZEZELL et al., 2009).

Existem alguns trabalhos mostrando um efeito sinérgico entre a irradiação com laser e a aplicação de fluoreto no aumento da resistência das estruturas dentárias aos ácidos, principalmente aqueles oriundos da cárie dentária, sendo os resultados em relação à erosão ainda controversos. Além disso, clinicamente medidas de higiene bucal podem influenciar a progressão da erosão dentária, uma vez que superfícies dentárias expostas a ácidos ficam amolecidas e vulneráveis a forças mecânicas como a abrasão (ATTIN et al., 2000). No entanto, ainda há poucos estudos na literatura que avaliem o efeito do laser como terapia para lesões de erosão associada à abrasão.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo tem a pretensão de esclarecer alguns dos temas que são necessários para a compreensão deste estudo e abordar as pesquisas mais relevantes já realizadas. Para tanto, a revisão de literatura está dividida nos seguintes tópicos: 2.1 Prevalência de erosão dentária; 2.2 Prevalência de erosão associada à abrasão dentária; 2.3 Prevenção e controle das lesões de erosão dentária; 2.4 – Fluoretos; 2.5 - Laser de Alta Potência; 2.6 Associação entre fluoreto e laser de alta potência.

2.1 Prevalência de erosão dentária

O declínio na prevalência de cárie, associado ao aumento da expectativa de vida, tem contribuído para a manutenção de um maior número de elementos dentários em adultos e idosos (NUNN, 1996). Consequentemente, mais superfícies estão sob o risco de desgaste, que se manifesta por meio de processos erosivos, abrasivos e de fadiga (ADDY; SHELLIS, 2006). Apesar de ainda não haver um consenso na diferenciação entre desgaste patológico e fisiológico (KREULEN et al., 2010), um aumento no índice de erosão nos grupos etários mais jovens tem sido observado (JAEGGI; LUSSI, 2006; AUAD et al., 2007; GURGEL et al., 2011). Desta forma, o diagnóstico precoce é importante para que medidas preventivas sejam implementadas, minimizando as consequências da erosão (VARGAS-FERREIRA; PRAETZEL; ARDENGHI, 2010).

Um trabalho realizado por Lussi et al. (1991), verificou que 7,7% de jovens (26 a 30 anos) e 13,2% de adultos (46 a 50 anos) apresentaram ao menos uma superfície dentária vestibular afetada por erosão com envolvimento de dentina. Na face oclusal dos dentes, pelo menos uma lesão severa foi observada em 29,9% dos jovens e em 42,6% dos adultos.

Holbrook, Armadottir e Kay (2003) ao revisarem a literatura em relação à erosão dentária, observaram que há um considerável aumento na incidência de desgaste dentário nos anos recentes e que a erosão tem predominado como causa,

sendo acentuada por outras formas de desgaste.

Em 2003, Nunn et al. (2003) analisaram dados provenientes de três levantamentos nacionais sobre a prevalência de erosão dentária em crianças britânicas, conduzidos nos anos de 1993 (UK National Children's Dentário Health Survey - NCDHS) e 1996-1997 (National Diet and Nutrition Survey-NDNS). Os resultados mostraram que houve uma tendência de aumento da prevalência de erosão dentária em crianças entre 4 a 6 anos de idade no decorrer dos anos, pois o índice encontrado no NCDHS em 1993 foi de 18% enquanto que no NDNS de 1996-97 foi de 38%.

Com relação à distribuição das lesões erosivas na dentição decídua em pré-escolares com menos de 4 anos de idade, MILLWARD, SHAW; SMITH 1994), Millward et al. (1994) e Wiegand et al. (2006) verificaram uma maior prevalência de erosão nos incisivos superiores. Os outros trabalhos em pré-escolares não investigaram a distribuição das lesões. Porém, estudos na dentição decídua em crianças maiores de 4 anos de idade indicaram um padrão de distribuição semelhante, com uma maior prevalência de erosão dentária nos incisivos superiores (DESHPANDE; HUGAR, 2004; KAZOULLIS et al., 2007). Além disso, as lesões erosivas em incisivos superiores decíduos são mais frequentes na superfície palatina do que na vestibular (CHADWICK; PENDRY, 2003; DESHPANDE; HUGAR, 2004; JONES; NUNN, 1995; MILLWARD; SHAW; SMITH, 1994; NUNN et al., 2003; O'BRIEN, 1994). Grande parte das lesões erosivas encontradas em crianças menores de 4 anos de idade era de gravidade leve, estando ainda em esmalte (AL-MALIK; HOLT; BEDI, 2001; HINDS; GREGORY, 1995; JONES; NUNN, 1995; MILLWARD; SHAW; SMITH, 1994; MILLWARD et al., 1994; WIEGAND et al., 2006). Estudos sobre a dentição decídua de crianças com mais de 4 anos de idade também revelaram prevalência de lesões erosivas em esmalte (AL-MAJED; MAGUIRE; MURRAY, 2002; DESHPANDE; HUGAR, 2004; HARDING et al., 2003; RIOS et al., 2007).

Em 2003, foi realizada uma pesquisa no Reino Unido, utilizando os mesmos parâmetros clínicos do estudo feito em 1993 para erosão. Assim, puderam-se comparar os resultados desses estudos e comprovar que houve um aumento significativo do desgaste dentário na superfície palatina dos incisivos na idade de 15

anos (CHADWICK et al., 2006).

Estudos sugerem que a prevalência e os padrões clínicos da erosão dentária apresentam grandes variações entre as populações, provavelmente devido aos diferentes padrões de alimentação e aos hábitos de higiene bucal de cada comunidade. Cuba, Kunzel, Cruz e Fisher (2000) observaram que as lesões erosivas apresentavam um aspecto característico: acometiam as bordas incisais dos incisivos centrais, com formato em “V”. Este padrão de desgaste ocorreu devido à alta quantidade de laranjas consumidas por dia por essas crianças, uma vez que elas viviam muito próximas a uma plantação de laranjas.

Dugmore e Rock (2005) foram os únicos autores a sugerir que a prevalência da erosão pode estar associada à raça, já que a etnia combina variáveis biológicas e sócio-culturais. Em seu estudo, eles avaliaram a erosão aos 12 anos de idade, e as crianças da raça branca apresentaram mais erosão do que as asiáticas.

Rios et al., 2007, avaliaram a prevalência de desgaste em dentes decíduos de crianças de 6 anos de idade e verificaram que 34,8% das crianças apresentavam desgaste nos incisivos, 78,1%, nos caninos e 40,7% nos molares. Analisando as respostas a um questionário de fatores etiológicos para desgaste dentário, que foi aplicado aos pais das crianças, os autores consideraram que o desgaste nos caninos apresentou correlação com a presença de bruxismo, e que o desgaste nos incisivos apresentou correlação com o hábito de segurar o refrigerante na boca antes de engolir. No entanto, os autores concluíram que os achados indicam que o desgaste nos incisivos poderia ser considerado fisiológico para esta idade.

Sales-Peres et al., 2008, avaliaram a prevalência de desgaste dentário em 295 adolescentes brasileiros com 12 anos de idade. No total, 24.780 superfícies dentárias foram avaliadas, sendo que 73,10% não apresentaram nenhum desgaste, 24,10%, apresentaram lesões incipientes e 2,46% lesões moderadas. Lesões severas não foram detectadas. A prevalência de desgaste dentário foi de 26,90%, sendo 53,22% em incisivos, 50,51% em caninos, 10,17% em pré-molares e 10,85% em molares. Além disso, a prevalência de desgaste em diferentes níveis foi similar em meninos e meninas.

No município de Diadema, no estado de São Paulo, Brasil, um estudo avaliou a prevalência de erosão dentária em 967 crianças e verificou que 51,6% apresentavam a lesão. A maioria das lesões acometia era apenas em esmalte (82,5%) (MURAKAMI, et al., 2009).

Com o objetivo de avaliar a prevalência da erosão dentária em adolescentes e os possíveis fatores etiológicos extrínsecos e intrínsecos envolvidos nesse processo, Gurgel et al., 2011 realizou um estudo com 414 adolescentes entre 12 e 16 anos de idade, de ambos os gêneros, matriculadas em escolas públicas ou privadas da cidade de Bauru/SP. O exame clínico foi realizado por dois examinadores previamente calibrados (Kappa = 0,85), que utilizaram o índice de OBrien (1994) para avaliar as faces vestibulares e palatinas dos incisivos superiores e a oclusal dos primeiros molares permanentes. Um questionário foi aplicado para pesquisar sobre dieta, história médica e hábitos dos adolescentes. A prevalência de erosão foi de 20% na amostra estudada, com envolvimento apenas de esmalte. Nenhuma superfície apresentou erosão em dentina ou exposição pulpar. A face vestibular foi a mais acometida (16,1%) e a face oclusal a menos acometida (1,3%). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre gênero, condição sócio-econômica e tipo de escola. Nenhum dos fatores de risco pesquisados no questionário apresentou uma associação significativa com a erosão. Concluiu-se que a erosão dentária foi uma condição observada na amostra estudada e não houve correlação entre esta ocorrência e as condições e hábitos de vida desta população.

Náhas et al., 2011, realizaram um estudo para avaliar a prevalência de erosão dentária em 232 brasileiros com idades entre 2-20 anos de idade. Foram relacionados os hábitos alimentares, higiene bucal e as superfícies dentárias foram avaliadas. A prevalência de erosão dentária foi de 25,43%, na qual foi maior nas superfícies oclusais (76%). Foi encontrada uma prevalência relativamente alta de erosão dentária em associação com a ingestão frequente de refrigerantes, doces e frutas. O consumo de leite pareceu proteger contra a erosão dentária em dentes anteriores.

2.2 Prevalência de erosão associada à abrasão dentária

Eisenberg, Shellis e Addy em 2003, avaliaram dois tipos de interação de forças erosivas e abrasivas em esmalte humano *in vitro*. Para simular escovação associada à erosão, espécimes foram mergulhados em 300 mL de 0,3% de ácido cítrico (pH 3,2) e em seguida, escovados com dentifrício com ou sem abrasivos (sílica). Este ciclo foi repetido 4 e 8 vezes. Para simular a erosão e abrasão concomitantes, os espécimes foram abrasionados com uma máquina de escovação enquanto estavam imersos na solução ácida, durante 20 min. A associação da erosão e abrasão concomitantemente, aumentou em 50% o desgaste em comparação à erosão apenas, independente da presença de abrasivo. Conclui-se que o esmalte erodido é instável e facilmente removido por ações mecânicas. A mastigação de alimentos com propriedades abrasivas pode aumentar o desgaste.

Um trabalho realizado por Attin et al. 2001, mostrou que a resistência do esmalte e da dentina à abrasão diminuiu após a erosão, porém melhorou com o aumento do tempo de remineralização. No entanto, mesmo após um período de 60 min de remineralização, o desgaste do esmalte foi significativamente maior quando comparado ao grupo que foi somente erodido, mas não abrasionado. O mesmo foi observado por Rios et al. (2006) que constataram que a saliva estimulada pela goma de mascar após um desafio erosivo ou erosivo e abrasivo reduz o desgaste dentário. Os autores observaram um decréscimo no desgaste para o grupo que foi somente erodido, seguido do grupo que foi erodido e abrasionado 60 min após o desafio erosivo, e por último, o grupo que foi abrasionado imediatamente após o desafio erosivo. Assim, para pacientes que apresentam risco ao desgaste dentário é recomendado aguardar, no mínimo, de 30 a 60 min para realizar a escovação dentária após um desafio erosivo.

No momento da escovação, o desgaste que acomete o esmalte erodido é dependente do tipo de escova (manual ou elétrica), da força que é utilizada e do tipo de dentifrício utilizado (HOOPER et al., 2003; WIEGAND et al., 2007). A perda de tecido duro aumenta à medida que a força aplicada à escova no momento da escovação aumenta. (WIEGAND et al., 2007). Além disso, a abrasão causada pela escovação é principalmente influenciada pelo dentifrício utilizado.

A abrasividade do dentífrico é determinada pelo tamanho e quantidade de abrasivo utilizado, pelo pH, pela capacidade tampão e pela concentração de fluoreto. Geralmente, a perda de esmalte e dentina aumenta com o aumento da abrasividade do dentífrico utilizado (HOOPER et al., 2003; WIEGAND et al., 2008). Em adição, dentífricos fluoretados podem reduzir a desmineralização erosiva e a abrasão dos tecidos erodidos (MAGALHÃES et al., 2007a e 2008). Assim, pacientes que apresentam lesões erosivas devem utilizar dentífricos fluoretados e com baixa abrasividade para seus cuidados de higiene bucal (MAGALHÃES et al., 2009b).

2.3 Prevenção e controle das lesões de erosão dentária

Jarvinen, Rytomaa e Heinonen (1991) salientam que muitos fatores de risco para a erosão dentária podem ser eliminados por meio de medidas gerais, como a promoção e divulgação nos meios de comunicação sobre os riscos do consumo exagerado de bebidas ácidas e alertar sobre os principais sintomas relacionados às condições gástricas. Outra alternativa, seria incluir nos rótulos dos produtos o grau de acidez, promovendo, assim, uma maior conscientização da população. Além disso, Neves, Pierro e Maia (2007) sugerem que os pediatras e odontopediatras devam alertar e transmitir informações aos pais e responsáveis sobre os riscos inerentes ao uso contínuo de formulações ácidas em relação ao desenvolvimento da erosão dentária.

A erosão é um processo lento e as estratégias para o seu controle incluem o diagnóstico precoce das lesões de erosão e a avaliação dos diferentes fatores etiológicos para identificar os pacientes de risco (LUSSI; HELLWIG, 2006; MAGALHÃES et al., 2009b, AMAECHI; HIGHAM, 2001). No entanto, em muitos casos pode se tornar difícil isolar um fator, devido à natureza multifatorial da etiologia das lesões de erosão. Uma análise cuidadosa da história médica do paciente, de seus hábitos alimentares e de fatores predisponentes é essencial (WIEGAND; ATTIN, 2003). Medidas preventivas devem ser aplicadas para reduzir o desafio erosivo e aumentar os fatores protetores e defensivos, restabelecendo o equilíbrio do meio bucal (LUSSI; HELLWIG, 2006), sendo a educação, a primeira etapa no tratamento da maioria dos pacientes que apresentam erosão dentária

(ZERO; LUSI, 2005).

Segundo Gandara e Truelove (1999), os principais componentes de um programa preventivo incluem: diminuir a frequência e severidade da exposição aos ácidos; estimular o fluxo salivar e a formação da película adquirida; intensificar a resistência dentária aos ácidos e a remineralização; promover proteção química e mecânica; minimizar as forças abrasivas; e diminuir o potencial erosivo das substâncias ácidas.

Em relação à diminuição da frequência e severidade do desafio ácido, May e Waterhouse (2003) consideram que o método preventivo mais efetivo e lógico é a redução da ingestão de produtos ácidos e o incentivo ao consumo de alimentos e bebidas mais saudáveis, como leite e queijo. No entanto, a eliminação dos fatores causais pode ser difícil (AMAECHI; HIGHAM, 2005), pois eles estão associados aos hábitos ou estilo de vida (LUSI, 2006; SERRA et al., 2009), sendo que a população tem apresentado um aumento crescente do consumo de produtos industrializados, como refrigerantes e sucos de frutas (TAHMASSEBI et al., 2006). Diante da dificuldade da mudança de hábitos para o controle dos fatores de risco à erosão dentária, é comum ocorrer a progressão das lesões e os danos causados pelo desafio ácido podem levar à hipersensibilidade dentária e ao comprometimento da estética, sendo necessária a reabilitação bucal nos casos mais avançados (LAMBRECHTS et al., 1996; JAEGGI; GRÜNINGER; LUSI, 2006). Porém, tais tratamentos restauradores não previnem o desgaste provocado pela erosão, havendo a necessidade de medidas que inibam ou estabilizem a erosão e que dependam pouco da mudança de hábito pelos pacientes (TURSSI et al., 2008).

Algumas recomendações são encontradas na literatura a fim de prevenir a erosão dentária: encaminhamento dos pacientes para atendimento médico especializado quando da presença de fatores intrínsecos como anorexia, bulimia ou doença gastro-esofágica; alteração de hábitos como bochechar bebidas ácidas ou mantê-las na cavidade bucal por períodos prolongados antes da deglutição; redução ou eliminação da exposição frequente a bebidas ácidas; ingestão de soluções ou alimentos que apresentam potencial de remineralização e/ou neutralização após erosão ácida, tais como os que podem conter fluoreto, bicarbonato de sódio, leite, ou comidas como queijo, iogurte sem açúcar; estimular o fluxo salivar com gomas de

mascar sem açúcar ou pastilhas desenvolvidas para esse propósito; evitar escovação dos dentes imediatamente após o consumo ou contato com qualquer tipo de substância ácida (JAEGGI; LUSSI, 1999; ATTIN, et al., 2001; ATTIN et al., 2004; LUSSI et al., 2004; ZERO; LUSSI, 2005).

Segundo ZERO; LUSSI, 2005, a película adquirida fornece proteção contra a erosão ácida, e a escovação com dentífrico abrasivo poderá remover essa proteção. Assim sendo, a utilização de escova dentária macia, não exercendo força excessiva, e a utilização de dentífricos com baixa abrasividade, podem diminuir o risco de desenvolvimento de lesões de desgaste.

Ao longo dos últimos anos tem sido proposta uma modificação na composição das bebidas, pois, sabe-se que as propriedades químicas do agente ácido, como o pH, tipo de ácido, conteúdo mineral, acidez titulável afetam seu potencial erosivo (GRENBY, 1996; BARBOUR et al., 2005). A adição de sais de cálcio e fosfato em bebidas erosivas tem mostrado resultados promissores. Vários refrigerantes enriquecidos com cálcio são encontrados no mercado em outros países e podem oferecer algum benefício na prevenção da erosão dentária (HARA; ZERO, 2008). O cálcio pode ser encontrado em bebidas na forma de gluconato de cálcio, lactato de cálcio, malato de cálcio, fosfato de cálcio, cloreto de cálcio e citrato de cálcio (GRENBY, 1996; BARBOUR et al., 2005).

O fluoreto adicionado nas bebidas ácidas também pode reduzir o seu potencial erosivo, entretanto, sua ação é limitada e dependente da sua concentração (LARSEN, 2001; ATTIN et al., 2005).

Dessa forma, enfatiza-se o aperfeiçoamento dos métodos preventivos já existentes, bem como, a introdução de técnicas inovadoras que possam agir como coadjuvantes na prevenção e controle das lesões de erosão dentária. Neste contexto, alguns autores relataram o efeito da aplicação de agentes fluoretados sobre o substrato erodido (WIEGAND; ATTIN, 2003), assim como, a ação dos lasers de alta potência sobre o mesmo (VLACIC; MEYERS; WALSH, 2007; MAGALHÃES et al., 2008a; RIOS et al., 2009; SOBRAL et al., 2009; WIEGAND et al., 2010; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010).

2.4 Fluoretos

A eficácia da utilização de fluoretos na prevenção de lesões de cárie já foi comprovada (TEN CATE; 1997, MARINHO 2003; LEVY, 2003; CURY et al., 2004; SEPPA, 2004; ADAIR, 2006; PARNELL et al., 2009). Van Rijkom, Truin e van't Hof (2004) investigaram o efeito da aplicação de gel de fluoreto de sódio (NaF) na redução de lesões de cárie em dentes decíduos e permanentes de crianças de idade entre 4,5 a 6,5 anos, com acompanhamento de 4 anos. Concluíram que, nesta faixa etária, em crianças com baixo índice de cárie, o tratamento com fluoreto na forma gel apresentou um efeito estatisticamente significativo na inibição da cárie em dentes permanentes. Marinho et al. (2003), em revisão sistemática, reafirmou que a aplicação de fluoreto gel está associada à redução da cárie em crianças. Tendo em vista o sucesso da utilização do fluoreto no tratamento de lesões de cárie, o mesmo tem sido testado para prevenir e/ou controlar as lesões de erosão (WIEGAND, ATTIN, 2003).

Diferentes formas de fornecimento de fluoreto na prevenção da erosão têm sido descritos, tais como aplicação tópica de gel, verniz e soluções. Recentes evidências de estudos *in vitro* e *in situ* sugerem que altas concentrações de fluoreto tópico são capazes de limitar o progresso da erosão e melhorar a remineralização (WIEGAND, ATTIN, 2003; GANSS et al., 2004; NEWBY et al., 2006; LUSSI et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2008c; MAGALHÃES et al., 2010).

A ação protetora do fluoreto sobre a erosão e abrasão dentária em esmalte foi estudada por Lagerweij et al. (2006). Trinta e seis espécimes de esmalte bovino foram submetidos a seis desafios por dia com ácido cítrico 1% de pH 2,3 por 30 s enquanto, durante o resto do dia, ficaram imersos em saliva artificial. Os grupos foram: T0- dentífrício sem fluoreto, TF- dentífrício com fluoreto (1250 ppm F), 2F- dentífrício com fluoreto e 2 aplicações diárias de gel de fluoreto acidulado (12500 ppm F), 8F- dentífrício com fluoreto e 8 aplicações diárias de gel de fluoreto acidulado (12500 ppm F). Metade dos espécimes de cada grupo foram submetidos à abrasão por escovação com o dentífrício. Após 14 dias de desafio erosivo, sem abrasão ou com abrasão, a aplicação de gel de fluoreto acidulado 2 ou 8 vezes ao dia causou uma significativa menor perda de esmalte dentário em relação ao uso isolado de dentífrício, com ou sem fluoreto. Concluiu-se que a aplicação de gel de

fluoreto altamente concentrado é capaz de proteger o esmalte contra a erosão e abrasão por escovação, enquanto que dentifrícios com fluoreto promovem uma pequena proteção.

O uso de dentifrícios fluoretados é a forma mais frequente de uso tópico de fluoretos. Magalhães et al. (2007a) pesquisaram *in situ/ex vivo* se a presença de fluoreto nos dentifrícios exerce um efeito protetor sobre a superfície submetida à erosão e à abrasão. Os dentifrícios fluoretados foram capazes de reduzir a perda mineral do esmalte sujeito à abrasão. No entanto, RIOS et al. (2008b) ao estudarem *in situ/ex vivo* o efeito da aplicação de um dentifrício fluoretado altamente concentrado (5000 ppm F) no esmalte submetido à erosão ou a erosão associada à abrasão por escovação, concluíram que tal dentifrício não apresentou efeito protetor significativo em nenhuma das duas situações. Afirmaram também que, em consequência dos resultados, os pacientes com risco de desenvolver erosão em esmalte deveriam se beneficiar de outras medidas preventivas. Porém, enfatizaram a necessidade de realização de futuros estudos para confirmação destes resultados. Os agentes fluoretados testados na maioria dos estudos sobre erosão dentária são aqueles que têm sido utilizados ao longo dos anos para a prevenção de cárie: fluoreto de sódio (NaF), fluoreto fosfato acidulado (APF), fluoreto de estanho (SnF₂) e fluoreto de amina (AmF). Mais recentemente, o efeito preventivo de outros tipos de fluoreto, tais como solução de tetrafluoreto de titânio a 4% (TiF₄), têm sido investigados em ensaios erosivos (TVEIT et al., 1983; BUYUKYILMAZ; OGAARD; ROLLA, 1997; TEZEL; ERGUCU; ONAL, 2002; VAN RIJKOM et al., 2003; VIEIRA; RUBEN; HUYSMANS, 2005; HOVE et al., 2006; VIEIRA et al., 2006; HOVE et al., 2007; SCHLUETER et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2007b; MAGALHÃES et al., 2008c; MAGALHÃES et al., 2009c; MAGALHÃES et al., 2010).

Magalhães et al (2008d), avaliaram o efeito na erosão em esmalte, de um verniz experimental de TiF₄ 4% comparando-o aos vernizes comerciais (NaF e NaF/CaF₂) e a uma solução de TiF₄ 4%. Para isso, 72 espécimes de esmalte bovino foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: verniz de NaF (2,26% F), verniz de NaF/CaF₂ (5,63%), verniz de TiF₄ 4%(2,45% F), verniz sem fluoreto (placebo), solução de TiF₄ 4% (2,45% F) e controle (sem tratamento). Os vernizes foram aplicados em uma camada fina e removidos após 6 h. A solução foi aplicada na superfície do esmalte por 1 min. Então, os espécimes foram submetidos ao

desafio erosivo 6 vezes/dia por 5 dias, a temperatura de 37°C. A desmineralização foi feita em Sprite® (1 min, 3 mL/min) e a remineralização em saliva artificial (durante o dia: 59 min entre cada ciclo, 0,5 mL / min; durante a noite: 0,1 mL / min). A média diária de erosão e a erosão cumulativa final (μm) foram significativamente menores para o grupo do verniz de TiF_4 4% sendo concluído que o verniz de TiF_4 parece ser um tratamento promissor para reduzir a perda de esmalte sob condições erosivas moderadas.

Wiegand et al. (2009) compararam o efeito dos fluoretos (a 0,5% e 1%) de sódio, de amina e de estanho em diferentes pH, sobre a erosão do esmalte *in vitro*. As amostras de esmalte bovino foram submetidos à ciclagem durante 3 dias. Em cada dia, as amostras foram expostas por 120 min em saliva humana e, posteriormente, tratadas com uma das soluções de fluoreto por 3 min: fluoreto de amina (AmF , 0,5% e 1% F), fluoreto de sódio (NaF , 0,5% e 1 F), respectivamente com pH 3,9 e 7,0, e fluoreto de estanho acidulado (SnF_2 , 0,5% e 1% F), com pH 3,9. Dois grupos foram tratados com soluções placebo, livres de fluoreto (pH 3,9 e 7,0) e um grupo serviu como controle (sem fluoreto). Dez espécimes de cada grupo foram inseridos em uma boca artificial, onde foi realizada a ciclagem erosiva com ácido clorídrico (pH 2,6) seis vezes ao dia, por 90 s, sendo que entre cada ciclo, os espécimes foram expostos à saliva artificial (1 h). Depois de três dias, a perda de esmalte foi analisada através da perfilometria. Apenas as soluções de SnF_2 acidulado a 0,5% e 1% e a solução de AmF a 1% foram capazes de reduzir a perda de esmalte pela erosão, sendo mais eficazes que as soluções de NaF .

Yu et al. (2010) investigaram *in vitro* o efeito de diferentes soluções de fluoreto sobre a erosão do esmalte. Espécimes de esmalte humano foram pré-tratados com uma das 10 soluções de fluoreto ($n = 20$): TiF_4 , NaF , AmF , ZnF_2 , ou SnF_2 , com pH normal (variando entre 1,2 a 7,8) ou pH tamponado (pH = 4). A solução de AmF foi mais eficaz na proteção contra a erosão do esmalte em comparação com os outros fluoretos testados. No entanto, a aplicação de TiF_4 com pH normal, de SnF_2 com pH normal e tamponado e de AmF com pH normal e tamponado também resultaram em menor perda de esmalte quando comparadas ao grupo controle. As soluções com menor pH apresentaram maior proteção, assim como as soluções TiF_4 , AmF , e SnF_2 em alta concentração também foram eficazes na inibição da erosão do esmalte.

O potencial de fluoretos convencionais, como o NaF e o AmF, na prevenção da desmineralização causada pela erosão está relacionado à formação de uma camada de fluoreto de cálcio (CaF_2) sobre o dente. Esta se comporta como uma barreira física, impedindo o contato do ácido com o esmalte subjacente, além de agir como uma fonte de íons fluoreto disponível durante o desafio erosivo (SAXEGAARD; ROLLA, 1988). A quantidade de CaF_2 formado depende do pH, disponibilidade de cálcio, concentração de fluoreto e frequência de aplicação, ou seja, a deposição de fluoreto de cálcio na superfície aumenta com a frequência de aplicação, com o aumento da concentração e com a diminuição do pH do agente (SAXEGAARD; ROLLA, 1988). Quando expostos a condições neutras, esse composto persiste sobre a estrutura por semanas ou meses (DIJKMAN; DE BOER; ARENDS, 1983). Em um ambiente com pH abaixo de 5,5, ele vai se dissolvendo gradualmente, liberando fluoreto e cálcio. Se a quantidade de fluoreto de cálcio for grande, em uma situação de ataque ácido, o mesmo pode constituir uma barreira mecânica para a difusão desse ácido, evitando o seu contato com o dente, e minimizando assim, a desmineralização. Essa defesa só ocorre por um período limitado, até a dissolução total do fluoreto de cálcio (GANSS; SCHLUETER; KLIMEK, 2007; MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008).

Além de promover a formação de uma barreira mecânica, o fluoreto liberado do CaF_2 , associado com o fluoreto presente na saliva, pode ajudar na remineralização de uma lesão erosiva. Após um ataque ácido erosivo, há perda de esmalte e amolecimento da superfície remanescente (AMAECHI; HIGHAM, 2001). Assim, após o tamponamento do ácido pela saliva, o pH retorna para valores neutros e o cálcio e fosfato da saliva ou de outras fontes podem promover a remineralização desta superfície. Quando há fluoreto suficiente no meio bucal, poderá haver formação de fluorapatita. No entanto, se essa remineralização for seguida de um desafio erosivo severo, com ácidos com características quelantes, mesmo a fluorapatita sendo mais resistente, ela pode ser solubilizada, resultando na erosão da superfície (MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008).

2.5 Laser de Alta Potência

A possibilidade de se aumentar a resistência do esmalte dentário à desmineralização após a irradiação por um laser foi demonstrada pela primeira vez em 1964 com um laser de rubi (STERN; SOGNAES, 1964). Com o aumento do conhecimento dos pesquisadores a respeito da interação do laser com os tecidos duros, vários tipos de laser como o dióxido de carbono (CO₂), neodímio (Nd:YAG), érbio (Er:YAG) e argônio começaram a ser testados (WILDER-SMITH et al., 1997; YAMADA et al., 2004).

Ainda em 1964, o primeiro laser de neodímio foi desenvolvido por Geusic. Apresenta três principais comprimentos de onda no infravermelho: 900 nm, 1064 nm e 1350 nm, porém, apresenta uma linha mais intensa no 1064 nm. O feixe laser de Nd:YAG (neodímio, ítrio, alumínio e granada) é atraído e mais rapidamente absorvido por tecidos pigmentados (HESS, 1990), operando na maioria dos casos em modo pulsado, com contato ou não contato (LOVE, 1995). Assim, para potencializar os efeitos do laser de Nd:YAG sobre a superfície do esmalte e diminuir a possibilidade de transmissão para o interior do tecido pulpar, utiliza-se a aplicação prévia de substâncias foto absorvedoras, como a tinta nanquim (HUANG et al., 2001) ou, mais recentemente, a pasta de pó de carvão (ZEZELL et al., 2009). O laser Nd:YAG têm sido estudados para tratamentos de inibição de cárie (FEATHERSTONE et al., 1998; ZEZELL et al., 2009) pelo aquecimento localizado da superfície. Para evitar a lesão de cárie dentária, a irradiação do laser deve modificar a composição do substrato dentário, promovendo um aumento da resistência à desmineralização. Além disso, a energia do laser deve ser fortemente absorvida e convertida em calor, sem danificar os tecidos subjacentes ou circundantes. Bons resultados na inibição de cárie incipiente foram observados após a utilização de laser de Nd:YAG (FEATHERSTONE et al., 1998; RODRIGUES et al., 2004).

Tsai et al. (2002) testaram *in vitro* a eficácia do tratamento com laser CO₂ pulsado (1 W, 750 pps, 1,33 mJ/pulso) e Nd-YAG (6 W, 50 pps, 120 mJ/pulso) sobre a resistência ácida do esmalte humano. Os espécimes foram desmineralizados em 10 mL de ácido láctico por 24 ou 72 h após o tratamento a laser. Depois de 24 h, a concentração de cálcio que se dissolveu no ácido láctico no grupo tratado com laser CO₂ foi significativamente menor do que no grupo controle, enquanto a concentração

de cálcio dissolvido no grupo do laser Nd:YAG não diferiu do grupo controle ($p>0,05$). Após 72 h de desafio ácido, nenhum grupo irradiado com laser diferiu significativamente do grupo controle. Concluíram que o esmalte tratado com laser CO₂ foi mais resistente ao desafio ácido que o tratado com laser Nd:YAG apenas nas primeiras 24 h, mas nenhum tipo de laser aumentou a resistência ácida do esmalte subsuperficial.

Yamada et al. (2004), observaram a superfície do esmalte e dentina irradiados com três diferentes lasers: Nd:YAG (comprimento de onda 1,06 μm), Er:YAG (2,94 μm), e CO₂ (10,6 μm) através de um analisador 3D instalado no MEV e um perfilômetro sem contato. Análises de espectroscopia foram feitas com espectrofotômetro Raman nas superfícies antes e depois da irradiação. Os lasers foram aplicados em secções verticais de três molares livres de cárie que após a irradiação foram seccionados para verificar a formação de cavidades. A irradiação com Nd:YAG e CO₂ na superfície do esmalte mostrou uma cor branca opaca, diferente da superfície dentinária, que tornou-se preta. O Er:YAG não induziu mudanças de cor na dentina. Numerosas rachaduras associadas com o stress térmico foram observadas na dentina irradiada com CO₂. Análise no perfilômetro mostraram cavidades profundas no esmalte e dentina irradiados com Er:YAG. A superfície dentinária irradiada com CO₂ apresentou-se menos rugosa. Análise no espectrofotômetro Raman mostrou que a fluorescência dos dentes irradiados foi geralmente maior do que quando não irradiados. Bandas na dentina atribuída à matriz orgânica de colágeno foram perdidas após irradiação com Nd:YAG e CO₂. O Er:YAG mostrou nenhum sinal de banda de carbono, condizente com a ablação dentária.

Zezell et al. (2009) avaliaram o efeito do laser Nd:YAG, quando associado à aplicação tópica de fluoreto fosfato acidulado (APF), para evitar a desmineralização do esmalte *in vivo*. Neste estudo (duplo cego), 242 dentes de 33 voluntários foram selecionados. Em todos os voluntários, nos dentes do lado direito foi aplicado fluoreto (APF) associado à irradiação de Nd:YAG (grupo laser) e nos dentes do lado esquerdo foi realizada apenas a aplicação da APF (grupo controle). Após aplicação tópica do fluoreto por 4 min, o laser Nd:YAG foi irradiado a 60 mJ/pulso (0,6 W, 10 Hz e 84,9 J/cm²). Antes da aplicação do laser, os espécimes (grupo laser) receberam aplicação de corante à base de carvão. Após um ano, constatou-se uma

redução de 39,2% na incidência de cárie no grupo laser quando comparado com o controle. O número de manchas brancas ou cavidades de cárie foi significativamente menor no grupo laser do que no grupo controle. A combinação entre o tratamento com laser Nd:YAG e a aplicação tópica de fluoreto foi eficaz para reduzir a incidência de cárie *in vivo*, diferentemente do que foi observado no estudo *in situ* anterior.

Somente quando a energia dos fótons é absorvida pelo tecido pode gerar calor e também a emissão de outro comprimento de onda (fluorescência). Por isso, quanto maior o coeficiente de absorção de um comprimento de onda, maior é o seu potencial para causar o aquecimento do tecido (SEKA et al., 1995). Além disso, o coeficiente de absorção também é inversamente proporcional à penetração da luz laser no tecido (NIEMZ, 1996). Sendo assim, quanto mais uma radiação eletromagnética é absorvida por um determinado tecido, menor é a sua profundidade de penetração nele.

2.6 Associação entre fluoreto e laser de alta potência

Tagomori e Morioka (1989) avaliaram a combinação dos efeitos do laser de Nd:YAG e do fluoreto na resistência ácida do esmalte dentário humano. Espécimes de esmalte foram submetidos à aplicação de solução de fluoreto de sódio (NaF 2%) ou fluoreto fosfato acidulado (APF 2%) antes ou depois da irradiação com laser. O desafio ácido foi realizado com HClO_4 por 15 e 30 s. A aplicação de APF depois da irradiação causou acentuado aumento na resistência ácida do esmalte, enquanto a aplicação antes da irradiação mostrou menor efeito, sendo similar ao tratamento isolado do APF ou do laser. A aplicação de NaF causou menor resistência ácida e menor absorção de fluoreto do que o APF, mesmo quando o esmalte foi tratado com laser.

Estudos relataram que as microrrachaduras provocadas na superfície do substrato dentário pela irradiação do laser (OHO; MORIOKA, 1990) poderiam promover um possível armazenamento do fluoreto de cálcio, aumentando assim, a capacidade de liberação de fluoreto ao meio bucal (CHIN-YING et al., 2004; GAO; PAN; HSU, 2006).

Vlacic, Meyers e Walsh (2007), investigaram o espectro de ação da irradiação laser associada à aplicação de fluoreto na proteção contra o amolecimento do esmalte dentário em resposta a um desafio erosivo. Além disso, observaram as mudanças de temperatura devido ao tratamento com laser. As superfícies vestibulares e linguais dos molares e pré-molares foram utilizadas no preparo dos espécimes de esmalte (n = 10). Após a aplicação de gel de fluoreto de sódio incolor a 1,23% (12.300ppm de íons F), as superfícies dos espécimes foram irradiadas por diferentes tipos de laser (argônio, argônio, e Nd:YAG com os respectivos comprimentos de onda: 488, 514, 532, 633, 670, 830 e 1064 nm e densidade de energia 15 J/cm²) em uma área 5 mm. Em seguida, foram expostos a um desafio erosivo (HCl a 1M) por 5 min. Os valores da dureza Vickers (VHN) foram registrados antes da aplicação do fluoreto gel e após o desafio ácido. Os controles negativos não foram expostos ao laser. Todos os comprimentos de onda da luz laser analisados apresentaram efeito protetor contra o amolecimento da superfície em comparação com as superfícies do controle negativo. A partir destes resultados, concluiu-se que o laser associado ao fluoreto fornece proteção ao esmalte dentário submetido a um desafio erosivo.

Com o objetivo de avaliar o sinergismo entre a irradiação laser e a aplicação de fluoreto na resistência dentária à erosão, Rios et al. (2009), estudaram o tratamento do esmalte com laser Nd:YAG combinado ou não ao efeito de agentes fluoretados. Cem blocos de esmalte bovino foram aleatoriamente divididos em 10 grupos: G1: sem tratamento (controle); G2: aplicação de fluoreto fosfato acidulado (APF) (1,23% F) por 4 min; G3: verniz fluoretado por 6 h (NaF, 2,26%); G4: laser Nd:YAG com 0,5 W (250 µs duração por pulso, 10 Hz, 35 J/cm², 30 s); G5: laser Nd:YAG com 0,75 W (52,5 J/cm²); G6: laser Nd:YAG com 1,0 W (70 J/cm²); G7: APF + laser Nd:YAG com 0,75 W; G8: laser Nd:YAG com 0,75 W + APF; G9: verniz fluoretado + laser Nd:YAG com 0,75 W e G10: laser Nd:YAG com 0,75 W + verniz fluoretado. Durante 10 dias foi realizado o ciclo erosivo através da imersão dos blocos em Sprite Light[®] por 1 min, seguido de imersão em saliva artificial por 59 min. Este procedimento foi repetido quatro vezes por dia. Em cada dia, durante as 20 h restantes, os blocos foram mantidos em saliva artificial. O desgaste foi avaliado por perfilometria após o 5º e 10º dias de ciclagem. No 5º dia, todos os grupos experimentais apresentaram desgaste significativamente menor quando comparados

ao grupo controle. No entanto, no 10º dia, somente G7 e G8 continuavam apresentando diferença do controle, concluindo assim, que a associação entre a aplicação tópica de fluoreto fosfato acidulado e a irradiação do laser Nd:YAG parece ser uma medida alternativa na prevenção contra a erosão dentária.

Sobral et al. (2009), com o objetivo de evitar a erosão do esmalte e a perda da estrutura sob regimes de erosão e/ou abrasão, avaliaram *in vitro*, por meio de duas metodologias diferentes, a eficácia do laser pulsado de Nd:YAG associado à aplicação tópica de fluoreto fosfato acidulado (APF). Para a primeira etapa do estudo, 100 coroas bovinas foram inicialmente protegidas com adesivo dentinário, deixando livre uma área de 5 x 5 mm e então submetidas a quatro tratamentos diferentes (n = 25): G1: sem tratamento (controle); G2: 4 min de aplicação da APF; G3: Nd:YAG (1 W, 100 mJ, 10 Hz, 141,5 J/cm²) e G4: irradiação com Nd:YAG + 4 min da APF. Após as amostras serem expostas ao ácido cítrico (2%, 30 min), foram submetidos a 5000 ciclos de escovação. Já na segunda etapa, 20 coroas humanas foram seccionadas no sentido mésio-distal, resultando em 40 espécimes. Em seguida foram incluídas em resina acrílica, sendo as superfícies de corte expostas, polidas e protegidas, restando uma área de aproximadamente 4 x 3 mm que recebeu o tratamento proposto. Os espécimes foram divididos em quatro grupos (n = 10): G1: sem tratamento (controle); G2: APF por 4 min; G3: irradiação de Nd:YAG (1 W, 100 mJ, 10 Hz, 125 J/cm²), e G4: irradiação do laser de Nd:YAG + APF. As amostras foram então imersas em ácido cítrico (2% p/v, 90 min). A dureza Vickers foi obtida antes e após os tratamentos dos espécimes humanos. Todos os grupos (bovinos e humanos) apresentaram diferença para a microdureza e o desgaste do esmalte, mas a associação Nd:YAG + APF tanto em dente bovino quanto humano foi mais eficaz e produziu resultados estatisticamente significativos. Pode-se então, concluir que a associação do laser Nd:YAG ao APF reduziu o desgaste do esmalte bovino e o amolecimento do esmalte dentário humano quando as amostras foram submetidas a um regime de erosão e/ou abrasão *in vitro*.

Wiegand et al. (2010), com o mesmo objetivo de associar a irradiação laser à aplicação tópica de fluoreto, analisaram a influência da irradiação do laser de dióxido de carbono (CO₂) combinado à aplicação de tetrafluoreto de titânio (TiF₄) e fluoreto de amina (AmF) na proteção do esmalte e dentina contra a erosão. Doze amostras de esmalte bovino e doze de dentina bovina foram aleatoriamente distribuídas em 7

grupos e um controle (sem tratamento): G1: irradiação com laser CO₂ apenas; G2: aplicação de TiF₄ apenas (1% F); G3: irradiação com laser CO₂ antes da aplicação de TiF₄; G4: irradiação com laser CO₂ durante aplicação de TiF₄; G5: aplicação de AmF (1% F); G6: irradiação com laser CO₂ antes da aplicação de AmF; G7: irradiação com laser CO₂ durante aplicação de AmF. Dez amostras de cada grupo foram submetidos à ciclagem durante 5 dias. Os espécimes de esmalte e dentina foram avaliados através de perfilometria antes do tratamento, após o 1º e 5º dias. A análise da microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada em amostras pré-tratadas, mas sem terem sido submetidas à ciclagem (duas amostras de cada grupo). Após o 5º dia, houve significativamente menos perda de esmalte nos G5 e G4 e perda dentinária significativamente menor no G5, apenas. Todos os outros grupos não foram diferentes significativamente dos controles. Superfícies que receberam unicamente a irradiação do laser (G1) apareceram inalteradas no MEV, embora as imagens MEV de esmalte mostrassem que a irradiação com laser CO₂ afetou a formação de precipitados de fluoreto. Os autores concluíram que a aplicação de AmF reduziu a erosão do esmalte e da dentina, mas a irradiação com laser de CO₂ não melhorou a sua eficácia. O TiF₄ apresentaram apenas uma capacidade limitada para evitar a erosão, mas a irradiação do laser de CO₂ aumentou significativamente a sua capacidade de reduzir a erosão do esmalte.

Steiner-Oliveira et al. (2010), combinaram a ação entre o laser CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) e o fluoreto gel na tentativa de aumentar a resistência do esmalte e da dentina à erosão, ao longo de sucessivos desafios erosivos. Trinta e dois espécimes de esmalte e dentina bovinos foram planejados, polidos e distribuídos aleatoriamente nos seguintes tratamentos (n = 8), fluoreto (F), laser (L), fluoreto + laser (FL) ou nenhum tratamento (C). As amostras foram submetidas a ciclos de desmineralização (0,3% de ácido cítrico, pH 2,45, por 5 min) e remineralização (saliva artificial, por 60 min), três vezes ao dia, durante 3 dias. A perda de superfície, bem como, a concentração de cálcio, fósforo e fluoreto na solução desmineralizante foram determinadas após cada dia de ciclagem. A associação entre fluoreto e laser (FL) resultou em menor perda de superfície, tanto em esmalte, quanto em dentina ao longo dos ciclos, diferindo significativamente do grupo controle. Nenhum benefício significativo da associação (FL) sobre o (F) ou tratamentos (L) foi observado. O laser de CO₂ pulsado ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) sozinho não foi capaz de evitar perdas de superfície

do esmalte ou dentina, devido à erosão. O tratamento a laser em combinação com o fluoreto mostrou alguma proteção, mas o efeito não parece ser sinérgico.

Ramalho (2010), em sua tese, estudou a possibilidade do esmalte dentário apresentar uma maior resistência à erosão através da irradiação deste, com laser CO₂ *in situ*. Para isso, 10 voluntários participaram do estudo cruzado com quatro tratamentos (G1 - controle, sem tratamento; G2 - irradiação com laser de CO₂; 0,3 J/cm² - 5 µs - 226 Hz; G3 - tratamento tópico com fluoreto - 1,25% - 3 min; G4 - laser de CO₂ + tratamento com fluoreto). Para cada tratamento, os voluntários utilizaram durante o dia e a noite (exceto durante as refeições) dispositivos palatinos contendo amostras de esmalte bovino esterilizadas. Para a realização da desmineralização erosiva, os aparelhos foram imersos em 80 mL de ácido cítrico 0,05 M (pH 2,3) por 20 min, duas vezes ao dia. Duas amostras foram coletadas de cada aparelho no 1º, 3º e 5º dias, para análise. A perda superficial foi medida por meio de perfilometria digital. Foram realizadas também medições do fluoreto, e espectroscopia de dispersão de raio X (EDX). Para o modelo *in vitro*, todos os procedimentos foram repetidos, mas ao invés de manter as amostras na cavidade oral, estas foram mantidas em água deionizada, sendo que a perda de superfície também foi analisada por meio de perfilometria digital. Os resultados mostraram que os grupos laser e laser + fluoreto apresentaram perda significativa de superfície menor, tanto *in situ* quanto *in vitro*. Os grupos que receberam apenas tratamento com fluoreto apresentaram perda significativa da superfície apenas no modelo *in vitro*. A análise de EDX mostrou que o grupo laser + fluoreto apresentou mais fluoreto que os demais grupos, e as medições de fluoreto das amostras mostraram que apenas no primeiro dia, os grupos de fluoreto e fluoreto + laser apresentaram significativamente mais fluoreto do que os demais grupos. A irradiação do laser de CO₂ com 0,3 J/cm² (5 µs, 226 Hz), associada ou não à utilização do fluoreto reduz a desmineralização superficial do esmalte erodido (por ácido cítrico), tanto *in situ* quanto *in vitro*. Este efeito ainda é observado após o 5º dia de desafio ácido.

Magalhães et al. (2011a) avaliaram a influência da irradiação laser Nd:YAG na eficácia dos vernizes de TiF₄ e NaF na proteção contra a erosão dentária. Para o estudo, amostras de dentes bovinos foram pré-tratados com verniz NaF, verniz TiF₄, solução NaF, solução TiF₄, verniz placebo, irradiação laser, irradiação prévia a aplicação de verniz NaF, irradiação prévia a aplicação do verniz de TiF₄ e irradiação

prévia a aplicação do verniz placebo. Dez espécimes de cada grupo foram submetidos à desmineralização erosiva (Sprite Zero 4X 90 s/dia) e remineralização (saliva artificial entre os ciclos erosivos) durante 5 dias. Foi avaliada a perda do esmalte por perfilometria, sendo que foram adicionados 2 espécimes a cada grupo para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Como resultados, todos os grupos submetidos ao TiF_4 apresentaram redução da erosão do esmalte comparados ao grupo controle. Os autores concluíram que apenas a irradiação laser não foi capaz de diminuir o potencial erosivo e não teve influência na eficácia do F, exceto TiF_4 . Por outro lado, o TiF_4 verniz protegeu contra erosão sem a influencia da irradiação laser.

Esteves-Oliveira et al. (2011), teve como objetivo avaliar o efeito da irradiação laser de CO_2 a $0.3\text{J}/\text{cm}^2$ na resistência de amostras de esmalte erodidos e submetidos a escovação. Foram utilizados sessenta amostras de esmalte dentário humano, os quais foram polidos e divididos em cinco grupos ($n = 12$), os quais receberam cinco tratamentos diferentes: irradiação laser (L), aplicação de fluoreto (F), aplicação de laser antes da aplicação de fluoreto (LF), aplicação de fluoreto antes da aplicação de laser (FL), grupo controle (C). Após o período de tratamento, os espécimes foram submetidos à 25 dias de ciclos abrasivos-erosivos, imersos em 100ml de Sprite por 90 seg e escovados duas vezes com uma escova elétrica. Entre os períodos de desmineralização, os espécimes foram imersos em solução mineral supersaturada. A perda superficial do desgaste dentário foi significativamente menor em todos os grupos tratados com laser quando comparado ao grupo controle e tratado com fluoreto. Para o grupo laser, uma camada de esmalte mais amolecida apresentou-se menos pronunciada. Como conclusão, a aplicação do laser de CO_2 sozinho ou em combinação com fluoreto gel, diminuiu, significativamente, o desgaste abrasivo de esmalte previamente erodido *in vitro*.

Diante do exposto, nota-se a necessidade de mais estudos em relação à utilização do laser. Somado a isso, a associação do laser ao fluoreto deve ser melhor investigada.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da irradiação laser Nd:YAG associada a dois diferentes veículos fluoretados aplicados antes e após à irradiação na diminuição da erosão e/ou abrasão do esmalte dentário. As hipóteses nulas consideradas foram:

- ✓ Não há diferença no desgaste do esmalte dentário após irradiação com laser associada ou não com verniz fluoretado ou flúor fosfato acidulado, submetido à erosão e/ou abrasão;
- ✓ O momento de aplicação da irradiação laser, antes ou após a aplicação dos veículos fluoretados não interfere no desgaste do esmalte dentário após erosão e/ou abrasão;
- ✓ Não há diferença no desgaste do esmalte dentário resultante da erosão em relação à erosão associada à abrasão.

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Este protocolo *in vitro* avaliou o efeito da irradiação laser de alta potência associada à aplicação de fluoretos sobre o esmalte dentário submetido à erosão e/ou abrasão dentária. Para tal, 184 blocos de esmalte foram selecionados pela microdureza de superfície (SMH inicial) e foram divididos em 8 grupos com 23 espécimes cada: G1- sem tratamento (controle); G2- tratamento com flúor fosfato acidulado (1,23% F) por 4 min; G3- verniz fluoretado; G4- irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G5- aplicação de flúor fosfato acidulado e posterior irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G6- aplicação de flúor fosfato acidulado e prévia irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G7- aplicação de verniz fluoretado e posterior irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²); G8- aplicação de verniz fluoretado e prévia irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²). Em cada grupo 10 blocos de esmalte dentário foram submetidos à erosão e os outros 10 à erosão associada à abrasão. Assim sendo, os fatores em estudo foram: tipo de tratamento e tipo de desafio químico-mecânico. Após os tratamentos, 3 espécimes de cada grupo foram utilizados para realização da biópsia básica da superfície de esmalte dentário.

Antes da realização dos tratamentos correspondentes a cada grupo, os blocos tiveram dois terços de suas superfícies protegidas com esmalte cosmético, deixando a área central exposta, para realização da perfilometria. Após os tratamentos, os blocos foram submetidos à ciclagem erosiva, composta por 4 imersões diárias em bebida ácida com pH 2,6, 0,32 ppm F (Coca-Cola Company, Spal, Porto Real, RJ, Brasil), por 2 min, seguida pela imersão em solução remineralizadora por 2 h, durante 5 dias. Após este período, os blocos de esmalte foram avaliados por meio da perfilometria.

4.2 Obtenção dos dentes e preparo dos blocos de esmalte

Aproximadamente 400 incisivos bovinos extraídos de gado da raça Nelore com idade média de 36 meses, abatidos para consumo no Frigorífico Vangélio Mondelli Ltda., em Bauru, SP, Brasil, foram previamente selecionados. Estes dentes foram submetidos à análise a olho nu, para selecionar os melhores, excluindo da amostra aqueles com trincas, desgastes, rachaduras ou manchas brancas. Os incisivos foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e posteriormente desinfetados em solução de timol à 0,1% (pH 7,0). A solução foi trocada periodicamente e o período mínimo de imersão dos dentes foi de 30 dias.

Primeiramente a raiz foi separada da coroa, com o auxílio de um torno para polimento odontológico adaptado para corte (Fábrica Nacional de Motores Monofásicos Nevoni / Série 16.223, Tipo: TG1/3, São Paulo, SP, Brasil) e um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil), sendo feita uma secção na porção cervical do dente.

Em seguida, para obtenção dos blocos de esmalte dentário, as coroas foram fixadas com godiva termo ativada (Kerr Corporation, EUA) em uma pequena placa de acrílico (40 X 40 X 5 mm³). A placa de acrílico foi parafusada em uma máquina de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw, Bulher Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) na qual foram acoplados dois discos diamantados dupla face - XLI 2205, Ref: 12.205 "high concentration", 102 X 0,3 X 12,7 mm (Extex Corp., Enfield, CT, USA) e um espaçador de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos com velocidade de 300 rpm, refrigerando com água deionizada, a porção mais plana das coroas dos dentes foram cortadas para a obtenção dos blocos de esmalte medindo 4 X 4 mm (**Figuras 1 e 2**).

Figura 1 – Máquina de corte

Figura 2 - Bloco de esmalte obtido de coroa dentária bovina.

Por fim, os blocos foram submetidos a uma planificação. Para tal, estes foram fixados com cera pegajosa no centro de um disco de acrílico de 30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura, com a face do esmalte dentário voltada para cima, com o intuito de realizar primeiramente a planificação da dentina em uma politriz metalográfica com um sistema múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova (APL 4, Arotec, Cotia, SP) (**Figura 3**) com o uso de uma lixa de carbeto de silício de granulação 320 (Extec Corp, Enfield, CT, EUA.), em baixa velocidade, sob refrigeração com água deionizada, durante período variando de 15 s até vários minutos, dependendo da espessura do bloco e do grau de utilização da lixa, até os blocos ficarem com espessura de aproximadamente 3 mm (**Figura 4**).

Figura 3 - Politriz

Figura 4 – Planificação da dentina

Na sequência, os blocos foram removidos do disco de acrílico e limpos com xilol (Farmácia Específica manipulação de fórmulas, Bauru, SP), para remover resíduos de cera. Posteriormente, foram novamente fixados com cera pegajosa no centro da placa de acrílico com a face de esmalte exposta para cima, para realização do polimento. Novamente o conjunto foi adaptado à politriz e o esmalte dentário foi desgastado inicialmente com uma lixa de carbeto de silício de granulação 600, sob refrigeração com água deionizada, durante 1 min, com 2 pesos, em velocidade baixa. Em seguida, foi feito o polimento do esmalte com lixa de carbeto de silício de granulação 1200 (Extec Corp, Enfield, CT, EUA.), sob refrigeração, durante 2 min, com 2 pesos, em velocidade alta. Entre as trocas de lixas, os discos contendo os blocos foram lavados em ultra-som T7 Thornton (Unique Ind. e Com. de produtos Eletrônicos Ltda., São Paulo, SP), com frequência de 40 KHz, durante 5 min, com água deionizada (200 mL), a fim de impedir interferência dos grãos na lisura do tecido.

Para o polimento final, foi utilizado um disco de feltro (Extec Corp, Enfield, CT, EUA.) umedecido em solução de diamante de 1 μm , durante 3 min. Após o último polimento, os blocos retornaram ao ultrassom, durante 10 min. Ao final os blocos se apresentaram planos e com aspecto vítreo.

4.3 Avaliação da Microdureza Superficial Inicial

A microdureza superficial inicial dos blocos de esmalte dentário foi avaliada utilizando-se um Microdurômetro (HMV 2000, Shimadzu Corporation, Japão) acoplado a um microcomputador e um software específico, composto por um penetrador diamantado piramidal tipo Knoop, carga 25 g aplicada por 5 s, com distância mínima entre elas de 200 μm (**Figura 5**). Em cada corpo de prova foram realizadas quatro endentações aleatoriamente, englobando diferentes áreas da superfície. Foram desprezados os blocos com valor médio de microdureza 10% acima ou 10% abaixo da média de todos os blocos. Os 184 blocos de esmalte selecionados apresentaram dureza entre 310 e 380 KNH. Na sequência foram aleatoriamente alocados entre os 8 grupos.

Figura 5 - Realização da endentação inicial dos blocos em microdurômetro com ponta Knoop.

4.4 Tratamento dos blocos de esmalte

Antes da realização do tratamento, com exceção dos 3 blocos de esmalte por grupo que foram submetidos a biopsia básica, todos os blocos tiveram dois terços da superfície coberta com esmalte de unha cosmético (Risque, Niasi, Taboão da Serra, SP, Brasil), para permitir uma superfície de referência para as aferições de desgaste (**Figuras 6A-C**).

Figura 6 (6A, 6B, 6C) - Sequência de proteção dos blocos com esmalte de unha cosmético.

A seguir os blocos foram tratados de acordo com os respectivos grupos em estudo:

G1- sem tratamento (controle);

G2- tratamento com flúor fosfato acidulado (1,23% F) por 4 min: 25 µL de flúor gel fosfato acidulado 1,23% (SS White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil.) (**Figura 7**) foram pipetados e aplicados na superfície do esmalte exposto, permanecendo em contato por um período de 4 min, em seguida o flúor foi removido com auxílio de gaze, sem fricção. (SANTAELLA et al., 2004);

Figura 7 – Flúor fosfato acidulado 1,23%.

G3- verniz fluoretado: o verniz de fluoreto Duraphat® 5% NaF, 2,26% F, pH 4,5 (Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda., São Paulo, SP, Brasil) (**Figura 8**), foi aplicado no grupo G3, em uma única e fina camada com auxílio de um pincel (Aplicador Microbrush KG Brush Fino – KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), em seguida os espécimes foram colocados em solução remineralizadora por 6 h (MAGALHÃES et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2010; SOUZA et al., 2010). Após este período, o verniz foi removido cuidadosamente com auxílio de uma haste de algodão embebida em acetona diluída (1:10) e lavados em água corrente (ATTIN et al., 2000; VLACIC et al., 2007);

Figura 8 – Verniz de fluoreto de sódio a 5%.

G4- irradiação com laser Nd:YAG ($56,6 \text{ J/cm}^2$): a irradiação da superfícies de esmalte foi realizada no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, usando um laser de neodímio; ítrio, alumínio, granada (Nd:YAG), Pulse Master 1000 IQ, American Dental Technology, San Carlos, EUA) (**Figura 9**) com comprimento de onda de 1064 nm, perpendicularmente à amostra com uma fibra óptica (320 μm de diâmetro) em modo de contato, 250 μs de duração do pulso, 10 Hz de frequência, com 60 mJ/pulso, resultando em $56,6 \text{ J/cm}^2$. A superfície exposta das amostras (livre de esmalte cosmético) foi irradiada por três vezes, durante 10 s cada, com intervalo de 10 s entre as irradiações, por um dentista, movendo a ponta da sonda laser continuamente em contato com a superfície do bloco. Nos grupos G4 a G8 foi feita aplicação de corante à base de carvão (coal paste), composto de carvão (carvão vegetal - *carbo activatus*, 250 mg; Erbarium Laboratório Botânico Ltda., Colombo, PR, Brasil) (**Figura 10**) triturado em moinho de porcelana por 10 min, resultando em partículas de 10 μm de diâmetro, diluídos em partes iguais de água deionizada e 99% de etanol. A pasta foi preparada imediatamente antes de sua utilização e aplicada com um pincel (Aplicador Microbrush KG Brush Fino – KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) na área exposta dos blocos (sem esmalte de unha cosmético), antes de cada uma das 3 irradiações com laser Nd:YAG (BOARI et al., 2009). Após o término da terceira irradiação, o bloco foi lavado por 15 s para remoção do corante à base de carvão;

Figura 9 - Aparelho do laser de Nd:YAG

Figura 10 - Carvão Vegetal

G5- aplicação de flúor fosfato acidulado e posterior irradiação com laser Nd:YAG ($56,6 \text{ J/cm}^2$): 25 μl de flúor gel fosfato acidulado 1,23% (SS White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil.) foram pipetados e aplicados na superfície do esmalte exposto, em seguida foi aplicada a pasta de carvão como descrito acima e realizada a irradiação com laser Nd:YAG. Terminando o período da irradiação, aguardou-se completar o período de 4 min para a remoção do flúor, o qual foi lavado em água corrente e colocado em solução remineralizadora;

G6- aplicação de flúor fosfato acidulado e prévia irradiação com laser Nd:YAG ($56,6 \text{ J/cm}^2$): foi utilizado o mesmo protocolo descrito no grupo 5, sendo que após o término da terceira irradiação, o bloco foi lavado por 15 s e a seguir foi aplicado o flúor gel como descrito no grupo 2;

G7- aplicação de verniz fluoretado e posterior irradiação com laser Nd:YAG ($56,6 \text{ J/cm}^2$): foi aplicado o verniz de flúor Duraphat, em uma única e fina camada com auxílio de um pincel (Aplicador Microbrush KG Brush Fino – KG Sorensen), a pasta de carvão foi aplicada como descrito anteriormente para posterior irradiação laser Nd:YAG, na sequência os espécimes foram colocados em solução remineralizadora e após 6 h o verniz foi removido cuidadosamente;

G8- aplicação de verniz fluoretado e prévia irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm²): foi aplicada a pasta de carvão para posterior irradiação laser Nd:YAG, em seguida os espécimes foram lavados em água corrente para aplicação do verniz fluoretado como descrito anteriormente, colocados em solução remineralizadora e após 6 h o verniz foi removido cuidadosamente.

Antes do início do desfilio *in vitro* os espécimes dos grupos 1, 2, 4, 5 e 6 foram mantidos em saliva artificial por 6 h, logo após o tratamento, para padronização em relação aos grupos nos quais foram aplicados verniz.

4.5 Protocolo do estudo *in vitro*

4.5.1 - Ciclagem Erosiva

Os blocos foram submetidos à ciclagem erosiva durante 5 dias. Cada dia de ciclagem foi composto por 4 ciclos de:

- ✓ Desmineralização por refrigerante ácido pH 2,6, 0,32 ppm F (Coca-Cola[®] Company, Spal, Porto Real, RJ, Brasil), em um volume de 17,6 mL por amostra, durante 2 min, sob temperatura ambiente em um recipiente de plástico (aproximadamente 200 mL). Os blocos foram encaixados em um dispositivo especial preconizado por Honório e Rios (**Figura 11**);
- ✓ Lavagem em água deionizada (20 s); Remineralização em 17,6 mL de solução remineralizadora por amostra, durante 2 h, sob temperatura ambiente em outro recipiente de plástico. A composição da solução remineralizadora foi: KH₂PO₄ a 2,4 mM, Na₂HPO₄ a 2,4 mM, KCl a 17 mM, NaSCN a 2 mM, NaCl 9,9 mM, CaCl₂ a 1,5 mM, NH₄Cl a 3 mM, urea 3,3 mM, glicose 0,2 mM e uma pitada de ácido ascórbico (pH 6.8) (KLIMEK et al., 1982) (**Figura 12**). Lavagem em água deionizada (20 s);
- ✓ Ao final de cada dia de ciclagem, os blocos foram imersos em saliva artificial, *overnight* (14 h), sob temperatura de 37°C (RIOS et al., 2009).

Figura 11 – Desmineralização dos blocos por refrigerante ácido

Figura 12 - Remineralização dos blocos em solução remineralizadora

4.5.2 Erosão e Abrasão

A erosão foi realizada como descrito anteriormente, no entanto, uma vez ao dia durante 5 dias, após cada ciclo, os espécimes foram submetidos à abrasão. Para padronização foi utilizada uma máquina automática para simulação de escovação (M.N. São Carlos, SP, Brasil) (**Figura 13**).

Figura 13 – Máquina de escovação.

O equipamento consiste de um motor que produz movimentos de vai-vem em dez braços, nos quais são fixadas as cabeças das escovas dentárias, viabilizando a simulação simultânea da escovação em dez espécimes. A base do equipamento é de aço inoxidável e possui dez dispositivos independentes para o posicionamento dos espécimes. As cabeças das escovas dentárias foram fixadas de forma a garantir seu alinhamento paralelo à base, em um ângulo de 12° com a direção da escovação, possibilitando melhor área de contato das cerdas com a superfície dentária. A máquina é dotada de um sensor de temperatura que viabiliza a escovação a temperatura de $37 \pm 2^\circ\text{C}$ através de um monitoramento preciso e livre de interferências externas através de uma cúpula de vidro. O teste submeteu cada espécime ao montante de 40 ciclos diários de escovação, com a aplicação de 250 g de peso sobre o centro do suporte das escovas, para prover uma força de 2,5 N sobre as amostras dentárias (HEATH; WILSON, 1974; BOYD et al., 1997; FRALEIGH et al., 1967). Durante a escovação, a máquina foi ajustada para injetar frequentemente, em cada espécime, 0,4 mL da solução a cada dois minutos.

Foram utilizadas escovas macias modelo Colgate Twister® Fresh (Colgate MPF, Colgate Palmolive, Divisão da Kolynos do Brasil Ltda, Osasco, SP) (**Figura 14**), as quais foram renovadas diariamente. Para simular a diluição de dentifrício que ocorre na cavidade bucal foi utilizada solução de dentifrício Colgate Total 12® Clean Mint® (Colgate MPF, Colgate Palmolive, Divisão da Kolynos do Brasil Ltda, Osasco-SP) (**Figura 15**) em água destilada na proporção de 1:2, relação peso-volume, de acordo com a especificação ISO 14569-1, 1999.

Diariamente ao final da última escovação, os blocos foram imersos em saliva artificial, *overnight* (14 h), sob temperatura de 37°C (RIOS et al., 2009).

Figura 14 – Escova macia modelo Colgate Twister® Fresh.

Figura 15 – Dentifrício Colgate Total 12[®] Clean Mint.

4.6 Avaliação do desgaste

Ao final das fases experimentais e antes da avaliação do desgaste, o esmalte cosmético de unha foi removido cuidadosamente com uma espátula, evitando-se o contato com a superfície a ser analisada. O desgaste da superfície de esmalte foi avaliado na interface controle-erosão-controle por análise do gráfico topográfico, utilizando um Perfilômetro (MarSurf GD 25, Mahr, Gottinger, Alemanha) (**Figura 16**). O equipamento foi programado para fazer a varredura de 4 linhas de 2,5 mm (eixo x) com distância de 250 μm entre elas (eixo Y), com o objetivo de varrer uma área grande da superfície exposta ao experimento (**Figura 17**). Cada uma destas linhas gerou um gráfico que foi analisado individualmente por meio de um ponto em cada área controle e 3 pontos na área experimental (vale). Desta forma, utilizando o software MarSurf XT 20 (Mahr, Gottinger, Alemanha), foi medida a distância entre cada uma das superfícies controle e cada ponto do vale, totalizando 6 valores de desgaste por gráfico. Considerando que cada espécime gerou 4 linhas, ou seja, 4 gráficos, o valor de desgaste correspondeu a média de 24 valores pontuais de medição.

Figura 16 - Perfilômetro acoplado ao computador.

Figura 17 – Ponta apalpadora realizando a leitura do desgaste.

4.7 Biópsia Básica (Remoção do Fluoreto de cálcio)

4.7.1 Preparo do espécime

Foram preparados 24 blocos para realização da biópsia básica, sendo 3 blocos para cada um dos respectivos grupos: G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8. Inicialmente os blocos de esmalte foram imersos e limpos em solução de acetona diluída e água deionizada (1:1), durante ± 30 s, e secos em gaze estéril. Os espécimes foram manuseados somente com pinças para que não houvesse a incorporação de partículas de gordura oriundas da mão. A seguir, uma fita adesiva foi perfurada por um perfurador de dique de borracha, com diâmetro de 2 mm^2 (1º furo do perfurador). Esta área circular da fita foi colada sobre a superfície do esmalte por meio de uma pinça. Com a fita colada na superfície do esmalte, o restante da área do bloco foi isolado com cera do tipo enceramento. Após a secagem da cera, a fita adesiva foi removida, expondo a superfície que foi submetida à biópsia.

4.7.2 Preparo das soluções

Inicialmente, foram preparadas soluções de 2M de KOH. Para tal, foi necessário conhecer o peso molecular e o grau de pureza (PM = 56,11 – 85% de pureza, Carlo Erba®) do KOH, para a realização do cálculo da massa a ser diluída em água, considerando a massa em relação à pureza através de uma regra de 3 (**Figura 18**).

$$\begin{array}{l} 56,11 \text{ ----- } 85\% \\ X \text{ ----- } 100\% \qquad X = 66,01176471 \\ M = 66,012 \text{ g KOH} / 1 \text{ L de água deionizada} \\ 2 \text{ M} = 2 \times 1 \text{ M} \end{array}$$

Figura 18 – Regra de 3 para o cálculo da massa a ser diluída em água deionizada, para se obter a Molaridade.

A solução de TISAB II, composta por ácido acético glacial 1M (Merck®), NaCl 1M (Sigma®) CDTA 11,55 mM (diaminocyclohexanetetran-acético, Sigma®) e NaOH 0,5 M (Nuclear®) foi preparada conforme descrição a seguir. Uma massa de ácido acético (57 mL = 60,02 g) e NaCl (58 mg) foram adicionados a 500 mL de água deionizada sob agitação. Em seguida, o NaOH (20 g) foi acrescentado à solução. Por último, adicionou-se o CDTA (4 g). Quando a mistura se resfriou, acrescentou-se água até dar um volume de 1L. E por fim, o pH da solução foi ajustado para 5,0 com adição de NaOH. Este TISAB II foi modificado para a biópsia básica, misturando-se 100 mL de TISAB II a 8,5 mL de HCl concentrado (Synth®). Para testar o TISAB II (HCl), misturou-se 2 mL de KOH a 2 mL do TISAB II (HCl) e mediu-se o pH da mistura que deveria estar próxima a 5,2, possibilitando a leitura pelo eletrodo.

4.7.3 Realização da Biópsia Básica

Após o preparo das soluções, os blocos foram imersos em seus respectivos tubos de ensaio em 0,5 mL de KOH e permaneceram durante 24 h sob agitação, em temperatura ambiente. Na sequência, os blocos foram removidos dos tubos de ensaio e o extrato básico assim obtido foi neutralizado com 0,5 mL de TISAB II pH 5,0 (HCl) e homogeneizado no agitador.

As soluções foram submetidas à análise de flúor, utilizando eletrodo específico para íon flúor (Orion 9609) e analisador de íons (Orion EA 940) previamente calibrados com padrões contendo 0,06; 0,125; 0,25 e 0,5 ppm de F. Os padrões foram preparados com a solução padrão de estoque, procurando utilizar sempre os mesmos padrões para toda análise que foi realizada em duplicata em tubos plásticos J10.

A curva de calibração foi realizada seguindo os padrões preparados (**Tabela 1**). Para se obter a concentração de fluoreto de cálcio removido do grupo controle (hígido) e da amostra, dividiu-se o valor encontrado pela área exposta ($\mu\text{g F/mm}^2$) e posteriormente, multiplicou-se por 100, dando a concentração em μg de flúor por cm^2 .

Tabela 1 – Padrões de Flúor para Análise da Biópsia Básica

Para o BLANCK	TESTE
0,5 mL de KOH	0,25 mL de padrão de 0,5 ppm F
0,5 mL de TISAB II (HCl)	0,25 mL de KOH 2 M
	0,5 mL de TISAB II (HCl)
0,06 ppm F	0,125 ppm F
0,25 mL de padrão de 0,25 ppm	0,25 mL de padrão de 0,5 ppm
0,25 mL de KOH 2 M	0,25 mL de KOH 2 M
0,5 mL de TISAB II (HCl)	0,5 mL de TISAB II (HCl)
0,25 ppm F	0,5 ppm F
0,25 mL de padrão de 1 ppm	0,25 mL de padrão de 2 ppm
0,25 mL de KOH 2 M	0,25 mL de KOH 2 M
0,5 mL de TISAB II (HCl)	0,5 mL de TISAB II (HCl)

4.8 Análise Estatística

Foi utilizado o *software* Statistica do Windows versão 5.1 (Statistica Software). Os dados obtidos neste estudo passaram nos teste de normalidade e homogeneidade (Kolmogorov-Smirnov), sendo posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA) a um critério (biópsia básica) e dois critérios (perfilometria) e Teste de Tukey, para comparações individuais entre os grupos. O nível de significância empregado foi de 5%.

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Microdureza Inicial

Os dados de microdureza inicial estão apresentados no **Apêndice A**. A microdureza inicial dos blocos de esmalte dentário se apresentou entre 310 e 380 KNH com média de 345,02 KNH.

5.2 Análise do desgaste superficial

A perda de esmalte dentário após 5 dias de ciclagem erosiva esta presente na **tabela 2**. Após verificação de que os dados se apresentavam normais e homogêneos foi aplicada a Análise de Variância a dois critérios (tipo de tratamento e tipo de desgaste), a qual revelou diferença significativa para tipo de tratamento e tipo de desgaste, sem interação entre os critérios.

Com relação ao tratamento, o teste de Tukey (**Anexo A**) mostrou que o grupo controle resultou em desgaste significativamente maior em relação aos grupos experimentais (G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8), os quais não apresentaram diferença significativa entre si, com exceção do G4 (Tabela 2, $p > 0,05$). O grupo (G6) o qual foi aplicado flúor fosfato acidulado com prévia irradiação laser Nd:YAG foi o que apresentou menor valor de desgaste após ciclagem erosiva de 5 dias (2,89 μm).

Com relação ao tipo de desgaste em todos os grupos estudados, inclusive no grupo controle, a erosão promoveu menor desgaste dentário quando comparada a erosão associada à abrasão (**Tabela 2**, $p < 0,05$). Na análise dos dados pode-se observar que numericamente o grupo G8, o qual foi aplicado verniz fluoretado com prévia irradiação laser Nd:YAG, apresentou menor valor de desgaste (3,94 μm) após a ciclagem erosiva e abrasiva..

Tabela 2 – Média da perda de esmalte dentário (μm) e desvio padrão ($\pm\text{dp}$) após 5 dias de ciclagem erosiva.

Tipo de desgaste Tratamento	Erosão ^A		Erosão + Abrasão ^B	
	Média (μm)	Desvio Padrão	Média (μm)	Desvio Padrão
Controle (G1)^a	5,47	0,14	6,17	1,02
Gel (G2)^b	3,22	0,52	4,23	0,48
Verniz (G3)^b	3,32	0,38	4,04	0,49
Laser (G4)^c	4,25	1,12	5,01	0,19
Gel + Laser (G5)^b	3,31	1,01	4,27	0,43
Laser + Gel (G6)^b	2,89	0,48	4,07	0,59
Verniz + Laser (G7)^b	3,49	0,13	4,15	0,55
Laser + Verniz (G8)^b	3,37	0,37	3,94	0,55

* Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna dizem respeito à ocorrência de diferença estatística significativa entre os tratamentos e tipo de desgaste, respectivamente ($p < 0,05$).

5.3 Biópsia básica do esmalte dentário

Os dados da biópsia básica do esmalte passaram nos testes de homogeneidade e normalidade, sendo aplicada a Análise de Variância a um critério e Teste de Tukey ($P < 0,05$). A **tabela 3** mostra a média e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) da quantidade de flúor (μg de F/cm^2) dos 8 grupos em relação à biópsia básica do esmalte dentário. Os testes estatísticos mostraram que o grupo controle (G1) e o grupo que foi irradiado com laser (G4) apresentaram menor incorporação de fluoreto no esmalte dentário em relação aos outros grupos (G2, G3, G5, G6, G7, G8) ($p < 0,05$). Observou-se que houve uma maior quantidade de incorporação de Flúor nos grupos que foram tratados com verniz fluoretado associado ou não com a irradiação prévia (G3 e G8) ($p < 0,05$), no entanto, o grupo que foi tratado apenas com verniz não apresentou diferença significativa em relação aos grupos tratados com flúor gel fosfato acidulado (G2, G5 e G6) ou com a irradiação posterior do laser ($p > 0,05$).

Tabela 3 – Média da quantidade de Flúor (μg de F/cm^2) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$).

Grupos	Média (μg)	Desvio Padrão
Controle (G1)^a	18,27	2,338
Gel (G2)^{b,c}	23,54	0,704
Verniz (G3)^{c,d}	26,77	1,061
Laser (G4)^{a,b}	22,25	2,985
Gel + Laser (G5)^{b,c}	24,3	1,522
Laser + Gel (G6)^{b,c}	23,59	0,679
Verniz + Laser (G7)^{b,c}	25,44	2,222
Laser + Verniz (G8)^d	31,2	1,928

* Letras minúsculas diferentes na linha dizem respeito à ocorrência de diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 Metodologia empregada

O presente estudo avaliou o efeito da irradiação laser associada ao fluoreto para prevenção de lesões erosivas e/ou abrasivas. Dentro do contexto minimamente invasivo, considera-se que a erosão deve ser diagnosticada o mais precocemente possível, para que ocorra a intervenção nos fatores etiológicos associada a terapias preventivas que inibam ou desacelerem as lesões provocadas. Dentro deste contexto optou-se por avaliar a erosão em esmalte e não em dentina, pois na dentina a intervenção deve se dar também em nível restaurador.

A utilização do esmalte bovino em substituição ao esmalte humano deu-se em função da maior facilidade na obtenção de grande quantidade de dentes hígidos para o experimento. Além disso, a área superficial dos dentes bovinos é maior do que a dos dentes humanos, permitindo uma área relativamente plana após o corte o que requer menor perda de esmalte superficial para planificação. Apesar da diferença morfológica entre eles (LAURANCE-YOUNG et al., 2011) e da ocorrência de maior desgaste no esmalte bovino, eles apresentam respostas equivalentes frente a um desafio erosivo (RIOS et al., 2006). Por estes motivos os dentes bovinos têm sido utilizados em diversos estudos a cerca da erosão (MAGALHÃES et al., 2008a; RIOS et al., 2009; WIEGAND et al., 2010ab; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010). Cabe ressaltar que uma revisão de literatura recente relatou que os estudos apresentam resultados conflitantes em relação à utilização de esmalte bovino como substituto ao humano em pesquisas de erosão. Concluíram que os substratos bovinos não são submetidos aos mesmos eventos genéticos, ambientais e alimentares como o material humano, podendo se comportar física e quimicamente de uma forma diferente (LAURANCE-YOUNG et al., 2011).

Com relação ao preparo dos espécimes, deve ser considerado que após o polimento, estes se apresentam mais suscetíveis à perda mineral do que as superfícies não polidas, visto que a camada superficial do esmalte, rica em fluoreto, é removida pelo polimento (GANSS; KLIMEK; SCHWARZ, 2000). No entanto, o

polimento é necessário para a realização da perfilometria de contato e para realização da microdureza superficial inicial dos blocos, procedimento necessário para seleção e para divisão igualitária dos blocos entre os grupos. Para esta divisão os blocos foram classificados em ordem crescente, divididos de acordo com o número de grupos e a seguir este grupo foi aleatoriamente dividido entre os grupos e assim por diante, de tal forma que em todos os grupos houvesse blocos de menor e maior dureza, apesar da aleatorização. De qualquer forma a utilização de superfícies polidas deve ser cuidadosamente considerada quando da extrapolação dos resultados para a situação *in vivo* (RIOS et al., 2009).

Vários tipos de ácidos são utilizados para se produzir erosão dentária nos estudos atuais, tais como o ácido cítrico (GANSS et al., 2004; LAGERWEIJ et al., 2006; GANSS et al., 2008; WEGEHAUPT et al., 2008; SCHLUETER et al., 2009; AUSTIN et al., 2010; HEURICH et al., 2010; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010), o ácido clorídrico (WIEGAND et al., 2008; WIEGAND et al., 2009; VLACIC et al., 2007; WIEGAND et al., 2008), o refrigerante Sprite Zero® (MAGALHÃES AC et al., 2010), o refrigerante Sprite® (VIEIRA et al., 2006), o ácido láctico (KAMEYAMA et al., 2000), os sucos de frutas ácidas (NAYLOR et al., 2006) e o refrigerante a base de cola (RIOS et al., 2008; SOUZA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2011). Atualmente há um consenso de que o consumo de quatro ou mais bebidas ácidas por dia está associado com alto risco de desenvolvimento de erosão dentária (LUSSI, 2000). Devido ao fato do consumo de bebidas ácidas ser um dos principais fatores relacionados ao aumento da erosão dentária observada na população, neste estudo optou-se pela utilização de um refrigerante e não de um ácido que simule a erosão de origem intrínseca. O refrigerante tipo cola (Coca-Cola®) foi escolhido pela sua fácil obtenção e alto consumo pela população (ABIR, 2011). Os refrigerantes a base de cola se caracterizam por possuir baixa concentração de cálcio e flúor, valores de pH inferiores aos sucos de frutas, cerca de 2,29 (OWENS, 2007) e cerca de 0,1% de ácido fosfórico. Apesar dos refrigerantes fosfatados serem danosos à superfície dentária, são menos erosivos e mais susceptível a alteração do pH (baixa capacidade tampão) em relação ao ácido cítrico presente em outros refrigerantes (WEST et al. 2001; LUSSI et al., 2004, OWENS, 2007).

Os ciclos de des-remineralização tiveram como objetivo simular condições clínicas de alto consumo de bebidas ácidas em curto período de tempo, várias vezes

ao dia. Na literatura não há uma padronização quanto ao tempo, número de vezes das imersões e nem das soluções ácidas utilizadas (MAGALHÃES et al., 2008a; RIOS et al., 2009; WIEGAND et al., 2010a; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010). Entre cada desafio erosivo, os espécimes foram mantidos em saliva artificial por 2 h, sendo que ao final de cada dia de ciclo permaneceram por toda a noite na solução para permitir a remineralização destes (KLIMEK; HELLWIG; AHRENS, 1982). A saliva é um importante agente contra erosão dentária, além de diluir os ácidos na superfície e fornecer cálcio e fosfato que atuam na remineralização, também atua na formação da película adquirida (MEURMAN; FRANK, 1991; HANNIG; BALZ, 2001). Esta camada se adere sobre a superfície dentária protegendo-a dos efeitos erosivos dos ácidos por um período de tempo, entretanto a película adquirida é removida após certo período de exposição ao ácido e perde sua capacidade protetora (HANNIG; BALZ, 2001). Estudos demonstram que 1 h de exposição do esmalte em saliva é suficiente para garantir a proteção do mesmo (WETTON et al., 2006), sendo suficiente para remineralizar e recuperar a força mecânica (ATTIN et al., 2000; AMAECHI; HIGHAM, 2001). No entanto, no presente estudo a saliva artificial utilizada não apresenta mucinas em sua composição, assim sendo não há formação de película adquirida. Esta informação deve ser considerada quando da extrapolação dos resultados para uma situação clínica.

A escovação foi escolhida para simular o processo de desgaste dentário proveniente da abrasão. A combinação de erosão e abrasão foi utilizada neste estudo, pois simula uma condição clínica em que o indivíduo ingere bebida ácida resultando em amolecimento da superfície do dente, tornando-o mais susceptível à abrasão, especialmente através da escovação (STEVES-OLIVEIRA et al., 2011).

O principal fator responsável pela maior ou menor abrasão provocada pela escovação com um dentífrício é a presença do abrasivo em sua composição, dependendo também do tamanho de suas partículas, concentração, diluente, temperatura de teste, marca e dureza da escova, força e frequência de escovação. Por outro lado tem sido indicado que a abrasividade não é influenciada pela dureza da escova e sim pelo número de cerdas, pressão e tempo de escovação. Neste estudo foi utilizado escovas dentais modelo Colgate Twister® Fresh que possuem cerdas macias com pontas arredondadas e dentífrício Colgate Total 12® Clean Mint.

Essa eleição foi determinada em função da representatividade de sua utilização pela população brasileira (STEVES-OLIVEIRA et al., 2011).

A máquina de escovação simulada foi empregada com a finalidade de aproximar a condição experimental de escovação com a condição encontrada na cavidade oral. O equipamento utilizado é dotado de um sensor de temperatura que viabiliza a escovação a temperatura de $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por meio de monitoramento preciso e livre de interferências externas. A importância do monitoramento da temperatura é importante, pois a rigidez as cerdas das escovas dentais diminui em temperaturas mais elevadas quando em comparação à ambiente, por ação do calor, reduzindo em até 28% a sua capacidade abrasiva. A máquina de escovação foi ajustada para realizar 40 ciclos de escovação simulada, de acordo com o protocolo utilizado no estudo de Engle et al., 2010, o qual simula uma escovação manual de cada dente por 14 segundos.

Atualmente, muitas pesquisas são realizadas com o objetivo de desenvolver um protocolo de prevenção para a erosão dentária. O fluoreto tem sido extensamente estudado com diferentes associações e formulações. Agentes fluoretados de alta concentração na forma de soluções, géis e vernizes podem ser utilizados na prevenção de erosão dentária, dentre eles estão: NaF, AmF, SnF_2 e FFA. Esses agentes fluoretados são utilizados há anos na prevenção de cárie dentária e a eficácia dos fluoretos em afetar o processo de des-remineralização está relacionada à sua concentração e pH. Quanto menor o pH do agente fluoretado, maior a capacidade de formação de precipitado de CaF_2 (TEN CATE, 1997).

Mais recentemente, outros agentes fluoretados, tais como os tetrafluoretados (TiF_4 , ZrF_4 e HfF_4) vêm sendo investigados quanto a sua capacidade de prevenir a erosão dentária (HOVE et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2008a; SCHLUETER et al., 2007; VIEIRA et al., 2006; VIEIRA et al., 2005; WIEGAND et al., 2008b; WIEGAND et al., 2008c), sendo que vários estudos mostraram que eles apresentaram efeito inibitório na erosão dentária (HOVE et al., 2007; SCHLUETER et al., 2007). Testamos o gel de flúor fosfato acidulado por se tratar de um método simples, de fácil aplicação e acessível à maioria dos clínicos. Apesar da efetividade do flúor no controle da erosão ser questionado por alguns autores (LARSEN; NYVAD, 1999; LARSEN; RICHARDS, 2002), alguns trabalhos *in vitro* (AMAECHI;

HIGHAM, 2005; ATTIN; DEIFUSS; HELLWIG, 1999; ATTIN; ZIRKEL; HELLWIG, 1998, GANSS ET AL., 2001; VAN RIJKOM ET AL., 2003) tem reportado uma significativa redução da erosão depois da aplicação tópica de agentes fluoretados.

A escolha do verniz de fluoreto Duraphat deu-se em função dele ser amplamente utilizado clinicamente e porque se verificou em outro estudo que este verniz apresentou-se como a melhor opção para reduzir parcialmente a erosão dentinária (MAGALHÃES et al., 2010).

De acordo com o fabricante o Duraphat[®] contém 2,26% F, 33,1% de álcool etílico, resinas naturais (colofônia, goma-laca, mástica), cera de abelha, sacarina e aroma. Neste estudo, o verniz de flúor foi aplicado uma única vez para simular a situação clínica em que, normalmente, realiza-se uma única aplicação profissional. Optou-se pela remoção do verniz de flúor após 6 h, previamente ao desafio erosivo, para verificar apenas o seu efeito químico e não para avaliar a proteção mecânica oferecida pelo material. Assim, o verniz foi removido após 6 h para simular a situação clínica em que ele é removido pela escovação e/ou mastigação. Outros estudos publicados também já utilizaram este tempo para remoção do verniz Duraphat (MAGALHÃES et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2010; SOUZA ET AL., 2010). A remoção do verniz foi realizada com cotonete embebido em acetona baseando-se em trabalhos anteriores (ATTIN et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2008b; MAGALHÃES et al., 2010; VLACIC et al., 2007b) que também utilizaram este produto sobre o esmalte dentário. Não se utilizou lâmina de bisturi para auxiliar a remoção do verniz porque isso poderia criar imperfeições na superfície da amostra, o que comprometeria os resultados.

Outra medida preventiva em relação à erosão dentária seria o aumento da resistência do dente contra a ação de ácidos por meio da alteração do esmalte. Vários trabalhos *in vitro*, *in situ* e clínicos tem mostrado o efeito preventivo do laser em relação à cárie dentária (FEATHERSTONE et al., 1998; ESTEVES-OLIVEIRA, 2008; ZECELL et al., 2009). No entanto poucos estudos têm avaliado a capacidade da irradiação laser em prevenir a erosão (VLACIC; MEYERS; WALSH; 2007; MAGALHÃES et al., 2008a; RIOS et al., 2009; SOBRAL et al., 2009; WIEGAND et al., 2010a; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010). Desta forma o presente trabalho

procurou associar a irradiação laser Nd:YAG a fluoretos em busca de uma medida preventiva para erosão.

Vários tipos de laser de alta potência podem ser utilizados para irradiar a superfície dentária (RIOS et al., 2009; WIEGAND et al., 2010a; CASTELLAN et al., 2007; DE FREITAS et al., 2010). Neste trabalho o laser de Nd:YAG foi utilizado devido as vantagens de ser de fácil aplicação, indolor, agir rapidamente e não pigmentar os tecidos bucais (BIRANG et al., 2007; CIARAMICOLI et al., 2003; GELSKEY et al., 1993; LAN, LIU, 1996). Além disso, tem apresentado resultados promissores como método de prevenção da desmineralização do esmalte na cárie dentária (BOARI; ZEDEL, 2001; CASTELLAN et al., 2007; TSAI et al., 2002 YAMAMOTO; SATO, 1980), apesar de poucos estudos o terem testado para controle da erosão dentária (MAGALHÃES et al., 2008; SOBRAL et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2011; ESTEVES-OLIVEIRA et al., 2011).

O parâmetro selecionado foi de 56,6 J/cm². Rios et al. (2009) utilizando o laser Nd:YAG com as densidades de energia de 35; 52,5 e 70 J/cm² encontraram efeito preventivo no quinto dia de ciclagem erosiva. Este desafio foi realizado com refrigerante a base de limão - 4 imersões diárias de 1 min por 5 dias/total 20 min. Sobral et al. (2009) utilizando potência de 141,5 J/cm² e imersão dos blocos por 30 min em ácido cítrico, não encontrou efeito preventivo do laser Nd:YAG com a variável de resposta perda de massa.

O laser de Nd:YAG é atraído e mais rapidamente absorvido por tecidos pigmentados (HESS, 1990). Visto que o comprimento de onda de 1064 nm é pouco absorvido pelos tecidos duros dentários e com esse comprimento de onda ocorre pouco aquecimento superficial e grande dissipação do calor, podendo comprometer a vitalidade pulpar, a aplicação de um pigmento visa potencializar os efeitos do laser sobre a superfície e diminuir a possibilidade de dissipação de calor para o interior do tecido pulpar (ZEZELL et al., 2009). Por este motivo neste trabalho incluiu a utilização de corante para aumentar o efeito da irradiação laser sobre a superfície dentária. O corante escolhido foi à pasta de carvão (coal paste), devido à facilidade de aplicação e remoção das superfícies dentárias (BOARI et al., 2009). A pasta de carvão foi aplicada sobre os blocos seguida pela irradiação do laser de Nd:YAG. Outros dois fatores contribuíram para a escolha do laser Nd:YAG: a condução por

fibra óptica possibilitando a aplicação em qualquer região da cavidade bucal, e a necessidade do uso de um agente para aumentar a absorção em esmalte funcionando como um guia uma vez que nas áreas irradiadas o corante desaparece e como não há absorção sem o corante diminui-se danos desnecessários ao tecido.

Neste estudo foi realizada a associação da irradiação do laser à aplicação de fluoreto. A literatura relata a aplicação de fluoreto antes da irradiação do laser, justificando até mesmo o melhor efeito anti-erosivo para o Nd:YAG (RIOS et al, 2009), mas como não há uma ordem pré-estabelecida na literatura da aplicação dos agentes, avaliamos a associação flúor + laser e laser + flúor. TEPPER et al. (2004) optaram por aplicar o laser após a aplicação do flúor, já Boari e Zezel (2001) irradiaram o esmalte antes da aplicação do flúor. Vlacic, Meyers e Walsh (2007) investigaram a ação do flúor ativado pelo laser, agindo simultaneamente na proteção do esmalte dentário contra um desafio erosivo.

Neste estudo foi utilizado para avaliação da perda de estrutura do esmalte, o perfilômetro. Este aparelho permite que seja feita a medição do “degrau”, em μm , da distância em altura entre a superfície de referência e a que sofreu desafio erosivo. A técnica de perfilometria ainda é a mais freqüente para quantificar as mudanças de superfície em tecidos dentários duros (RIOS et al., 2006, VIEIRA et al, 2006; SALES-PERES et al, 2007, WIEGAND et al, 2008d).

Decidiu-se avaliar a perda de estrutura do esmalte apenas após 5 dias de desafio erosivo porque um estudo evidenciou que, entre 1 e 3 dias, os resultados são muito mais positivos, principalmente quando se realiza tratamento superficial com flúor (MAGALHÃES et al., 2010). Especula-se que a perda do efeito benéfico protetor do flúor ocorra em pouco tempo porque a camada de CaF_2 formada sobre a superfície dentária deve ser pouco resistente aos desafios erosivos. Magalhães et al. (2010) verificaram que a base e o flúor contidos nos vernizes não resistem aos desafios erosivos a partir do 5º dia. Dessa forma, avaliações de perda de estrutura dentária prévias ao 5º dia de desafio erosivo poderiam fornecer melhores resultados, mas poderiam não ser representativas do que ocorreria em longo prazo. Além disso, acredita-se que se o efeito do tratamento de superfície for pouco duradouro, o método não poderia ser considerado efetivo, pois dificilmente um paciente repetiria o tratamento em prazos tão curtos.

6.2 Resultados

No presente estudo todos os tratamentos avaliados resultaram em diminuição significativa do desgaste dentário em relação ao grupo controle, mostrando um efeito preventivo dos tratamentos. No entanto, não houve diferença estatística significativa entre os grupos de tratamento Gel, Verniz, Gel+L, L + Gel, Verniz + L e L + Verniz. Somente o grupo que sofreu apenas a irradiação laser (G4) apresentou um desgaste maior em relação aos outros tratamentos, corroborando com os resultados encontrados na literatura (WIEGAND, et al, 2010; STEINER-OLIVERIA et al, 2010; MAGALHÃES et al, 2011a).

São muitas as teorias para a interação entre o fluoreto e o laser, mas não há um consenso entre os autores. O mecanismo de ação da irradiação do laser no controle da desmineralização provocada pela cárie dentária é muito explorado, porém quando se trata de erosão dentária este mecanismo não é conhecido. Várias são as hipóteses formuladas para a cárie, dentre elas podemos citar a redução da permeabilidade do esmalte a agentes químicos causada pelo derretimento e fusão da superfície do esmalte (STERN; SOGNAES, 1972). Como em diversos estudos após a irradiação (sob temperaturas acima de 1.100°C) foi observado o derretimento e fusão da superfície, surgiu a teoria de que essa camada superficial fundida causaria uma diminuição da permeabilidade ao ácido e portanto a redução da dissolução mineral (STERN; VAHL; SOGNAES, 1972; WALSH; PERHAM, 1991). Porém as evidências atualmente disponíveis indicam que a fusão não é obrigatoriamente necessária para que haja inibição da progressão de lesão e também que as alterações ocorridas no esmalte fusionado não são as mais interessantes para redução da solubilidade, visto que a camada formada não é uniforme e sim restrita a apenas algumas áreas de maior interação da estrutura dental com a irradiação laser (NELSON et al., 1987). Outra explicação se baseia na redução da solubilidade do esmalte ocasionada pela recristalização dos cristais de hidroxiapatita ou pela mudança de solubilidade da apatita aquecida pela formação de compostos fosfatados menos solúveis, ou seja, a transformação dos cristais em β -hidroxiapatita (NELSON et al., 1986; NELSON et al., 1987). Esta redução da solubilidade ocorre em temperaturas que variam de 650°C a 1.100°C. Ainda, sob essas temperaturas, há a perda de água e carbonato do substrato dentário. Acima

dessas temperaturas ocorre o derretimento da superfície e a β apatita é convertida em α apatita, que por sua vez é mais solúvel (WIGDOR et al., 1995). A terceira e mais recente teoria descreve a possível decomposição da matriz orgânica na redução da solubilidade do esmalte. O uso de uma baixa densidade de energia (0,3 J/cm²) pode levar ao aquecimento do esmalte a temperaturas inferiores a 400°C e isso pode causar uma decomposição parcial da matriz orgânica. Esta decomposição poderia levar a uma obstrução dos espaços intra e interprismáticos, com o comprometimento da difusão de íons ácidos e redução da desmineralização do esmalte (HSU et al., 2000). Além disso, sob temperaturas que variam de 100°C a 650°C 66% do carbonato e 30% da água são perdidas, além de haver desnaturação e decomposição das proteínas (WIGDOR et al., 1995). Hsu et al. (2000), demonstraram que após a irradiação com laser de CO₂ em amostras de esmalte contendo matriz orgânica ou em outras em que essa matriz foi removida, a inibição à progressão de cárie foi significativamente maior nas amostras irradiadas que continham a matriz orgânica.

Nos resultados do presente estudo apesar da irradiação laser ter promovido menor perda de estrutura dentária em relação ao controle, não foi observado um efeito preventivo como a literatura relata para a cárie. A hipótese para esse resultado se baseia nas diferenças entre o mecanismo de desmineralização da cárie em relação ao mecanismo de desmineralização da erosão. Na cárie, uma queda de pH de 5,5 é capaz de promover a solubilidade das apatitas carbonatadas. Entre o pH 5,5 e 4,5 há dissolução da hidroxiapatita. Já em pH abaixo de 4,5 há dissolução também da fluorapatita e hidroxiapatita fluoretada (BUZALAF, 2008). Desta forma, o laser ao diminuir a concentração de apatita carbonatada, supostamente irá substituí-la por hidroxiapatita fluoretada quando na presença de fluoreto, diminuindo a desmineralização quando houver queda do pH (NELSON et al., 1986; NELSON et al., 1987). Normalmente os danos produzidos pela placa provocam queda de pH entre 5,5 e 4,5. Assim, a perda de carbonato e a recristalização promovem uma maior resistência do esmalte em relação a cárie dentária. Com relação a erosão, o pH crítico para que ela ocorra geralmente é abaixo de 4,5, ou seja, todas as apatitas carbonatadas e fluoretadas irão se dissolver nesse meio ácido. Desta forma pode-se supor que a diminuição de apatita carbonatada e a recristalização dos cristais não serão suficientes para tornar o substrato mais resistente quando se trata de desafio

erosivo, inclusive em relação à ação de fluoretos na erosão. Sabe-se que este deve estar em maior concentração, pois seu efeito preventivo se dá pela formação de fluoreto de cálcio que atua como uma barreira física, impedindo que o ácido entre em contato direto com a superfície dentária, até que haja dissolução da mesma (SAXEGAARD; ROLLA, 1988; BUZALAF, 2008).

O pequeno efeito preventivo encontrado para a irradiação laser no presente estudo pode ter ocorrido devido à precipitação dos produtos da decomposição do conteúdo orgânico (proteínas) do substrato dentário, sendo que esses produtos podem ter obliterado as porosidades dos tecidos, diminuindo o contato e a penetração dos ácidos.

Estudos realizados com o laser Nd:YAG irradiado antes ou após a aplicação tópica de fluoreto também demonstraram aumentar a resistência à desmineralização em relação ao grupo controle (RIOS et al., 2009; SOBRAL et al., 2009). Estes resultados estão em concordância com o presente estudo, pois os grupos em que foi aplicado fluoreto e laser apresentou-se similar ao que aplicou-se o fluoreto. Desta forma constatou-se que não houve efeito sinérgico do fluoreto + laser. Existem dois possíveis mecanismos envolvidos no sinergismo existente quando os dois tratamentos (laser e fluoreto) são associados, ambos decorrentes do aumento da reatividade do esmalte aos fluoretos. Um deles enfatiza o papel dos lasers no aumento da incorporação de fluoreto dentro da estrutura cristalizada na forma de fluorapatita (MEURMAN et al., 1996).

Outro mecanismo sugere que o tratamento combinando fluoreto e laser produz, sobre o esmalte dentário, numerosos precipitados esféricos que morfológicamente lembram fluoreto de cálcio, que funcionariam como um reservatório de fluoreto (HOSSAIN et al., 2002). Sendo que este mecanismo poderia promover uma barreira mecânica para diminuir o contato entre ácido e esmalte dentário. No entanto este possível mecanismo não foi confirmado pela biopsia básica, o que justifica a ausência de sinergismo entre os tratamentos observados no presente estudo. Nos grupos nos quais os fluoretos foram associados à irradiação laser não foi observada maior presença de fluoreto no esmalte em relação a aplicação individual de fluoreto. Apesar do grupo da aplicação prévia de verniz associada à irradiação laser ter apresentado maior presença de fluoreto, este grupo

não apresentou diferença significativa em relação ao grupo com apenas aplicação de verniz, além disso, o efeito em relação à diminuição da erosão também foi similar.

Sabe-se que o impacto mecânico da escovação sobre esmalte atacado por substâncias ácidas aumenta o desgaste dentário. A escovação imediatamente após um ataque erosivo apresenta uma capacidade de gerar maior perda de esmalte dentário quando comparado apenas ao ataque ácido isolado (ATTIN et al., 2001; GANSS et al., 2007a). Este fenômeno foi confirmado nos resultados do presente estudo, pois a erosão associada à abrasão promoveu maior desgaste em relação à erosão, independentemente do tratamento.

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho e diante da literatura disponível, pode-se concluir que a utilização de fluoretos ainda é a melhor alternativa no tratamento das lesões erosivas. Além disso, o mecanismo de ação do laser em relação à erosão deve ser melhor estudado.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos nas condições experimentais deste trabalho, baseado nas hipóteses nulas consideradas, pode-se concluir que:

- ✓ O desgaste do esmalte dentário após irradiação com laser é significativamente maior que o desgaste após a aplicação de fluoretos (verniz fluoretado ou flúor fosfato acidulado) associada ou não a irradiação laser, quando submetido à erosão e/ou abrasão;
- ✓ O momento de aplicação da irradiação laser, antes ou após a aplicação dos veículos fluoretados não interferiu no desgaste do esmalte dentário após erosão e/ou abrasão;
- ✓ O desgaste do esmalte dentário resultante da erosão é significativamente menor em relação à erosão associada à abrasão.

Com base nesses resultados, considerando-se o custo benefício e a praticidade de aplicação, para os pacientes com risco de erosão dentária, a aplicação de fluoreto ainda é o tratamento com melhores resultados preventivos em relação à erosão dentária.

Referências

REFERÊNCIAS

Addy M, Shellis RP. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:17-31.

Al-Majed I, Maguire A, Murray J. Risk factors for dental erosion in 5-6 year old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002;30(1):38-46.

Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol.* 2001;46(8):697-703.

Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent.* 2005;33(3):243-52.

Andrade L E H, Lizarelli R F Z, Pelino J E P, Bagnato V S, Oliveira Jr O B. Enamel caries resistance accidentally irradiated by the Nd:YAG laser. *Laser Physics Letters.* 2007;4(6):457-63.

Antunes V L R, Salvador V L R, Scapin M A, Rossi W, Zezell D M. Nanosecond Nd:YAG laser on dental enamel: compositional analysis by X-ray fluorescence. *Laser Physics Letters.* 2005;2(6):318-23.

Attin T, Buchalla W, Gollner M et al. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res* 2000;34: 48–52.

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(3):216-22.

Attin T, Siegel S, Buchalla W, Lennon AM, Hannig C, Becker K. Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: an in situ study. *Caries Res.* 2004;38(1):62-6.

Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A. Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Dis.* 2005;11(1):7-12.

Auad SM, Waterhouse PJ, Nunn JH, Steen N, Moynihan PJ. Dental erosion amongst 13- and 14-year-old Brazilian schoolchildren. *Int Dent J.* 2007;57(3):161-7.

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. *J Dent.* 2010;38(10):782-7.

Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(5):428-33.

Birang R, Poursamimi J, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hypersensitivity treatment. *Lasers Med Sci.* 2007 Mar;22(1):21-4.

Boari H G D, Ana P A, Eduardo C P, Powell G L, Zezell D M. Absorption and thermal study of dental enamel when irradiated with Nd:YAG laser with the aim of caries prevention. *Laser PHys.* 2009;19(7):1463-9.

BUZALAF, MAR. Fluoretos e saúde bucal. 1ª Edição. Livraria e Editora Santos. 2008.

Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RMG, Mendes FM, Eduardo CP, et al. 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.

Ciaramicoli MT, Carvalho RC, Eduardo CP. Treatment of cervical dentin hypersensitivity using neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser. Clinical evaluation. *Lasers Surg Med.* 2003;33(5):358-62.

de Freitas PM, Rapozo-Hilo M, Eduardo Cde P, Featherstone JD. In vitro evaluation of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser-treated enamel demineralization. *Lasers Med Sci.* 2010;25(2):165-70.

Deshpande, S. D.; Hugar, S. M. Dental erosion in children: an increasing clinical problem. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* 2004;22(3):118-127.

Dibdin GH. The water in human dental enamel and its diffusional exchange measured by clearance of tritiated water from enamel slabs of varying thickness. *Caries Res.* 1993;27(2):81-6.

Dijkman AG, de Boer P, Arends J. In vivo investigation on the fluoride content in and on human enamel after topical applications. *Caries Res.* 1983;17(5):392-402.

Dugmore CR, Rock WP: The effect of socio-economic status and ethnicity on the comparative oral health of Asian and White Caucasian 12-year-old children. *Community Dent Health.* 2005; 22:162-169.

Eccles JD. Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent.* 1979;42(6):649-53.

Eduardo CP, Gouw-Soares S, Haypek P. Utilização clínica dos lasers. São Paulo: Artes Médicas; 2002.

Eisenburger M, Shellis RP, Addy M. Comparative study of wear of enamel induced by alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. *Caries Res.* 2003;37(6):450-5.

Esteves-Oliveira M. Avaliação de diferentes parâmetros para irradiação do esmalte dental com o laser de CO₂ visando a redução da desmineralização [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

Esteves-Oliveira M, Pasaporti C, Heussen N, Eduardo CP, Lampert F, Apel C. Prevention of toothbrushing abrasion of acid softened enamel by CO₂ laser irradiation. *J Dentistry* 2011, 39:604-611.

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

Featherstone JD. Caries detection and prevention with laser energy. *Dent Clin North Am*. 2000;44(4):955-69.

Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci*. 2006;20:66-76.

Fowler BO, Kuroda S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif Tissue Int*. 1986;38(4):197-208.

Gandara BK, Truelove EL. Diagnosis and management of dental erosion. *J Contemp Dent Pract*. 1999;1(1):16-23.

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(10):897-902.

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

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. *Arch Oral Biol*. 2007;52(1):9-14.

Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J. Efficacy of waiting periods and topical fluoride treatment on toothbrush abrasion of eroded enamel in situ. *Caries Research* 2007a;41:146–51.

Gao XL, Pan JS, Hsu CY. Laser-fluoride effect on root demineralization. *J Dent Res*. 2006;85(10):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):377-86.

Grenby TH. Lessening dental erosive potential by product modification. Eur J Oral Sci 1996;104:221-228.

Gurgel CV, Rios D, Buzalaf MA, da Silva SM, Araujo JJ, Pauletto AR, et al. Dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. Pediatr Dent. 2011;33(1):23-8.

Hannig M, Balz M. Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. Caries Res. 2001 Apr;35(2):142-8.

Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. Eur J Oral Sci. 2008 Feb;116(1):60-5.

Harding M, Whelton H, O'Mullane D, Cronin M. Dental erosion in 5-year-old Irish school children and associated factors: a pilot study. Community Dent Health 2003; 20(3):165-70.

Heurich E, Beyer M, Jandt KD, Reichert J, Herold V, Schnabelrauch M, Sigusch BW. Quantification of dental erosion – A comparison of stylus profilometry and confocal laser scanning microscopy (CLSM). Dent Mater. 2010 Apr;26(4):326-36.

Hess JA. Scanning electron microscopic study of laser-induced morphologic changes of a coated enamel surface. Lasers Surg Med. 1990;10(5):458-62.

Hinds K, Gregory J. National Diet and Nutrition Survey: children aged 1½ to 4½ years. Office of population censuses and surveys. London: HMSO; 1995.

Holbrook WP, Armadottir B, Kay EJ. Prevention. Part 3: Prevention of tooth wear. Br Dent J 2003;195:75-81.

Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG. Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentine: a model in situ using toothpastes of different abrasivity. *J Clin Periodontol*. 2003 Sep;30(9):802-8.

Hossain MM, Hossain M, Kimura Y, Kinoshita J, Yamada Y, Matsumoto K. Acquired acid resistance of enamel and dentin by CO₂ laser irradiation with sodium fluoride solution. *J Clin Laser Med Surg*. 2002;20(2):77-82.

Hove L, Holme B, Ogaard B, Willumsen T, Tveit AB. The protective effect of TiF₄, SnF₂ and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res*. 2006;40(5):440-3.

Hove LH, Holme B, Young A, Tveit AB. The erosion-inhibiting effect of TiF₄, SnF₂, and NaF solutions on pellicle-covered enamel in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2007;65(5):259-64.

Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *J Dent Res*. 2000;79(9):1725-30.

Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res*. 2011;45(1):60-8.

Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci*. 1996;104:151-5.

Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci*. 2006;20:44-65.

Järvinen VK, Rytömaa II, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res*. 1991;70:942-7.

Jennett E, Motamedi M, Rastegar S, Frederickson C, Arcoria C, Powers JM. Dye-enhanced ablation of enamel by pulsed lasers. J Dent Res. 1994;73(12):1841-7.

Jones S G, Nunn JH. The dental health of 3-year-old children in east Cumbria. Community Dent Health 1995; 12(3): 161-6.

Kameyama A, Koga H, Takizawa M, Takaesu Y, Hirai Y. Effect of Er:YAG laser irradiation on acid resistance to bovine dentin in vitro. Bull Tokyo Dent Coll. 2000;41(2):43-8.

Kazoullis S, Seow W, Holcombe T, Newman B , Ford D. Common dental conditions associated with dental erosion in schoolchildren in Australia. Pediatr Dent 2007;29(1):33-9.

Klimek J, Hellwig E, Ahrens G. Fluoride taken up by plaque, by the underlying enamel and by clean enamel from three fluoride compounds in vitro. Caries Res. 1982;16(2):156-61.

Künzel W, Cruz MS, Fischer T. Dental erosion in Cuban children associated with excessive consumption of oranges. Eur J Oral Sci. 2000;108(2):104-9.

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

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 Endod. 2000;26(8):450-3.

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

Larsen MJ. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. Caries Res. 2001;35(3):229-34.

Larsen MJ, Richards A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. *Caries Res.* 2002;36:75-80.

Love RM. The effects of laser irradiation of the dental tissues--a review. *N Z Dent J.* 1995;91(406):134-7.

Lussi A, Schaffner M, Hotz P, Suter P. Dental erosion in a population of Swiss adults. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1991;19(5):286-90.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38 Suppl 1:34-44.

Lussi A, Jaeggi T, Gerber C, Megert B. Effect of amine/sodium fluoride rinsing on toothbrush abrasion of softened enamel in situ. *Caries Res.* 2004b;38:567-71.

Lussi A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:1-8.

Lussi A, Hellwig E. Risk assessment and preventive measures. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:190-9.

Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T. Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. *Caries Res.* 2008;42(1):62-7.

Magalhães AC, Rios D, Delbem AC, Buzalaf MA, Machado MA. Influence of fluoride dentifrice on brushing abrasion of eroded human enamel: an in situ/ex vivo study. *Caries Res.* 2007a;41(1):77-9.

Magalhães AC, Stancari FH, Rios D, Buzalaf MA. Effect of an experimental 4% titanium tetrafluoride varnish on dental erosion by a soft drink. *J Dent.* 2007b;35(11):858-61.

Magalhães AC, Rios D, Buzalaf MAR. Influência dos fluoretos na prevenção de lesões erosivas. In: Buzalaf MAR. Fluoretos e saúde bucal. São Paulo: ed. Santos; 2008.p.221-46.

Magalhães AC, Rios D, Machado MA, Da Silva SM, Lizarelli Rde F, Bagnato VS, et al. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. PHotomed Laser Surg. 2008a;26(6):559-63.

Magalhães AC, Rios D, Moino AL, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. Effect of different concentrations of fluoride in dentifrices on dentin erosion subjected or not to abrasion in situ/ex vivo. Caries Res. 2008b;42(2):112-6.

Magalhães AC, Rios D, Buzalaf MAR. Influência dos fluoretos na prevenção de lesões erosivas. In: Buzalaf MAR. Fluoretos e saúde bucal. São Paulo: ed. Santos; 2008c.p.221-46.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MA. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. J Dent. 2009a;37(12):994-8.

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

Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on the erosion of permanent and deciduous human enamel: an in situ/ex vivo study. J Appl Oral Sci. 2009c;17(1):56-60.

Magalhães AC, Levy FM, Rios D, Buzalaf MA. Effect of a single application of TiF(4) and NaF varnishes and solutions on dentin erosion in vitro. J Dent. 2010;38(2):153-7.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi, A. Fluoride in dental erosion. Monogr Oral Sci. 2011;22:158-70.

Magalhaes AC, Romanelli AC, Rios D, Comar LP, Navarro RS, Grizzo LT, Aranha ACC, Buzalaf MAR. Effect of a Single Application of TiF4 and NaF Varnishes and

Solutions Combined with Nd:YAG Laser Irradiation on Enamel Erosion in Vitro. Photomed Laser Surg 2011a; 8:537-544.

May J, Waterhouse PJ. Dental erosion and soft drinks: a qualitative assessment of knowledge, attitude and behaviour using focus groups of schoolchildren. A preliminary study. Int J Paediatr Dent. 2003;13(6):425-33.

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

Millward A, Shaw L, Smith A. Dental erosion in four-year-old children from differing socioeconomic backgrounds. ASDC J Dent Child. 1994;61(4):263-6.

Millward A, Shaw L, Smith AJ, Rippin JW, Harrington E. The distribution and severity of tooth wear and the relationship between erosion and dietary constituents in a group of children. Int J Paediatr Dent. 1994;4(3):151-7.

Murakami C, Correa MSNP, Rodrigues CRMD. Prevalência de erosão dentária em crianças e adolescentes em São Paulo. UFES Rev Odontol. 2006;8:4-9.

Murakami C, Bönecker M, Corrêa MS, Mendes FM, Rodrigues CR. Effect of fluoride varnish and gel on dental erosion in primary and permanent teeth. Archives of Oral Biology. 2009;54(11):997-1001.

Nahás PCMS, Nahás PCF, Nahás PCJP, Murakami C, Mendes FM. Prevalence and associated factors of dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. Int J Paediatr Dent. 2011;21(6):451-8.

Naylor F, Aranha AC, Eduardo Cde P, Arana-Chavez VE, Sobral MA. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acidic beverages. Photomed Laser Surg. 2006;24(6):745-52.

Nelson DG, Shariati M, Glena R, Shields CP, Featherstone JD. Effect of pulsed low energy infrared laser irradiation on artificial caries-like lesion formation. Caries Res. 1986;20(4):289-99.

Nelson DGA, Wefel JS, Jongebloed WL, Featherstone JDB. Morphology, histology and crystallography of human dental enamel treated with pulsed low-energy infrared laser radiation. *Caries Res.* 1987;21(5):411-26.

Neves BG, Pierro VSS, Maia LC. Percepções e atitudes de responsáveis por crianças frente ao uso de medicamentos infantis e sua relação com cárie e erosão dentária. *Ciênc. Saúde Coletiva.* 2007;(12)5:1295-1300.

Newby CS, Creeth JE, Rees GD, Schemehorn BR. Surface microhardness changes, enamel fluoride uptake, and fluoride availability from commercial toothpastes. *J Clin Dent.* 2006;17(4):94-9.

Niemz MH. *Laser-tissue interactions: fundamentals and applications.* Berlin: Springer, 1996.

Nunn JH. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2):156-61.

Nunn JH, Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A. Dental erosion -- changing prevalence? A review of British National childrens' surveys. *Int J Paediatr Dent.* 2003;13(2):98-105.

O'Brien M. *Children's dental health in the United Kingdom, 1993.* London: OPCS. Her Majesty's Stationery Office 1994; 74-6, 113.

Owens BM. The potential effects of pH and buffering capacity on dental erosion. *Gen Dent.* 2007;55(6):527-31.

Peterson G, Bratthall D. The caries decline: a review of reviews. *Eur J Oral Sci.* 1996;104;4:436-43.

Ramalho KM. *Prevention of enamel erosion through CO2 laser irradiation. An in situ study [Tese de doutorado].* Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da USP; 2010.

Rios D, Honorio HM, Magalhães AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, et al. 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(3):218-23.

Rios D, Magalhães A, Honório H, Buzalaf M, Lauris J, Machado M. The prevalence explanatory factors of deciduous tooth wear in six-year-old children and its relationship with potential. *Oral Health Prev Dent* 2007; 5(3):167-71.

Rios D, Magalhães AC, Polo RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc.* 2008b;139(12):1652-6.

Rios D, Magalhães AC, Machado MA, da Silva SM, Lizarelli R de F, Bagnato VS, et al. In vitro evaluation of enamel erosion after Nd:YAG laser irradiation and fluoride application. *PHotomed Laser Surg.* 2009;27(5):743-7.

Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Pereira D, Assaf AV, Pardi V. Carbon dioxide laser in dental caries prevention. *J Dent.* 2004;32(7):531-40.

Sales-Peres SHC, Goya S, Araújo JJ, Sales-Peres A, Lauris JRP, Buzalaf MAR: Prevalence of dental wear among 12-year-old Brazilian adolescents using a modification of the tooth wear index. *Public Health* 2008; 122: 942–948.

Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res.* 1988;96(6):523-35.

Schlueter N, Duran A, Klimek J, Ganss C. Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Caries Res.* 2009;43(1):10-16.

Seka W, Fried D, Featherstone JD, Borzillary SF. Light deposition in dental hard tissue and simulated thermal response. *J Dent Res.* 1995;74(4):1086-92.

Serra MC, Messias DC, Turssi CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. *Braz Oral Res.* 2009;23(1):49-55.

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45(1):69-77.

Sobral MA, Lachowski KM, de Rossi W, Braga SR, 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):709-13.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser effect on dental hard tissues. A Preliminary Report. *J South Calif Dent Assoc.* 1964;33:17-9.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. *J Am Dent Assoc.* 1972;85(5):1087-90.

Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res.* 1972; 51(2):455-60.

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(2):127-33.

Souza JG, Rachel ID, Pereira AFF, Silva TC, Rios D, Machado MAAM, et al. Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion in vitro. *J Oral Sci.* 2010;4(4):553-9.

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

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon ME. Soft drinks and dental health: a review of the current literature. *J Dent.* 2006;34(1):2-11.

Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO₂ laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel in vitro. J Dent. 2004;32(8):635-41.

Tsai CL, Lin YT, Huang ST, Chang HW. In vitro acid resistance of CO₂ and Nd:YAG laser-treated human tooth enamel. Caries Res 2002;36:423-9.

Turssi CP, Hara AT, Domiciano SJ, Serra MC. Study on the potential inhibition of root dentine wear adjacent to fluoride-containing restorations. J Mater Sci Mater Med. 2008;19(1):47-51.

Vargas-Ferreira F, Praetzel JR, Ardenghi TM. Prevalence of tooth erosion and associated factors in 11-14-year-old Brazilian schoolchildren. J Public Health Dent. 2010.

Vieira A, Lugtenborg M, Ruben JL, Huysmans MC. Brushing abrasion of eroded bovine enamel pretreated with topical fluorides. Caries Res. 2006;40(3):224-30.

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

Vlacic J, Meyers IA, Kim J, Walsh LJ. Laser-activated fluoride treatment of enamel against an artificial caries challenge: comparison of five wavelengths. Aust Dent J. 2007b;52(2):101-5.

Walsh LJ, Perham SJ. Enamel fusion using a carbon dioxide laser: a technique for sealing pits and fissures. Clin Prev Dent. 1991;13(3):16-20.

Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T. Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? J Oral Rehabil. 2008;35(5):390-4.

West NX, Hughes JA, Addy M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. J Oral Rehabil 2001;28:860-4.

Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions-a review. *Oral Health Prev Dent*. 2003;1(4):245-53.

Wiegand A, Müller J, Werner C, Attin T. Prevalence of erosive tooth wear and associated risk factors in 2-7-year-old German kindergarten children. *Oral Dis*. 2006;12(2):117-24.

Wiegand A, Köwing L, Attin T. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. *Arch Oral Biol*. 2007;52(11):1043-7.

Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Ziebolz D, et al. Impact of toothpaste slurr y abrasivity and toothbrush filament stiffness on abrasion of eroded enamel - an in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2008;66(4):231-5.

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*. 2009;37(8):591-5.

Wiegand A, Magalhães AC, Navarro RS, Schmidlin PR, Rios D, Buzalaf MA, et al. Effect of titanium tetrafluoride and amine fluoride treatment combined with carbon dioxide laser irradiation on enamel and dentin erosion. *Photomed Laser Surg*. 2010a;28(2):219-26.

Wiegand A, Hiestand B, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Attin T. Effect of TiF_4 , ZrF_4 , HfF_4 and AmF on erosion and erosion/abrasion of enamel and dentin in situ. *Arch Oral Biol*. 2010b;55(3):223-8.

Wigdor HA, Walsh JT, Jr., Featherstone JD, Visuri SR, Fried D, Waldvogel JL. Lasers in dentistry. *Lasers Surg Med*. 1995;16(2):103-33.

Wilder-Smith P, Lin S, Nguyen A, Liaw LH, Arrastia AM, Lee JP, et al. Morphological effects of ArF excimer laser irradiation on enamel and dentin. *Lasers Surg Med*. 1997;20(2):142-8.

Willumsen T, Ogaard B, Hansen BF, Rølla G. Effects from pretreatment of stannous fluoride versus sodium fluoride on enamel exposed to 0.1 M or 0.01 M hydrochloric acid. *Acta Odontol Scand.* 2004;62(5):278-81.

Yamamoto H, SATO K. Prevention of dental caries by Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Res.* 1980;59(2):171-77.

Yamada MK, Uo M, Ohkawa S, Akasaka T, Watari F. Three-dimensional topographic scanning electron microscope and Raman spectroscopic analyses of the irradiation effect on teeth by Nd:YAG, Er: YAG, and CO(2) lasers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004;71(1):7-15.

Yip KH, Smales RJ, Kaidonis JA. The diagnosis and control of extrinsic acid erosion of tooth substance. *Gen Dent* 2003;51(4):350-3.

Yu H, Attin T, Wiegand A, Buchalla W. Effects of various fluoride solutions on enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 2010;44(4):390-401.

Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996;10(2):162-77.

Zero DT, Lussi A. Erosion-chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J.* 2005;55(4):285-90.

Zezell DM, Boari HG, Ana PA, Eduardo Cde P, Powell GL. Nd:YAG laser in caries prevention: a clinical trial. *Lasers Surg Med.* 2009;41(1):31-5.

Zuerlein MJ, Fried D, Featherstone JD, Seka W. Optical properties of dental enamel in the mid-IR determined by pulsed photothermal radiometry. *Ieee J Sel Top Quant.* 1999;5(4):1083-9.

Apêndice

APÊNDICES

Apêndice A - Resultado da microdureza inicial dos 184 blocos de esmalte dentário utilizados neste estudo.

Bloco	Média Final										
1	335	36	346	71	359	106	339	126	357	161	325
2	325	37	338	72	332	107	335	127	332	162	332
3	344	38	337	73	342	108	349	128	349	163	364
4	370	39	365	74	362	109	325	129	317	164	313
5	310	40	374	75	359	110	359	130	349	165	359
6	330	41	338	76	348	111	361	131	364	166	367
7	324	42	360	77	345	112	346	132	384	167	354
8	364	43	374	78	355	113	356	133	330	168	324
9	321	44	319	79	341	114	319	134	323	169	351
10	320	45	348	80	364	115	340	135	322	170	327
11	315	46	335	81	368	116	342	136	362	171	352
12	356	47	364	82	368	117	335	137	336	172	356
13	334	48	386	83	323	118	352	138	353	173	358
14	332	49	355	84	358	119	371	139	335	174	351
15	360	50	335	85	343	120	346	140	362	175	337
16	376	51	322	86	338	121	351	141	324	176	334
17	366	52	329	87	346	122	333	142	360	177	374
18	337	53	345	88	358	123	352	143	334	178	354
19	349	54	342	89	343	124	308	144	347	179	369
20	380	55	374	90	340	125	354	145	332	180	333
21	332	56	351	91	327	126	357	146	324	181	341
22	330	57	361	92	340	127	332	147	333	182	344
23	349	58	359	93	335	128	349	148	361	183	380
24	350	59	348	94	363	129	317	149	319	184	363
25	353	60	342	95	344	130	349	150	310		
26	349	61	341	96	334	131	364	151	333	Média: 345	
27	355	62	342	97	339	132	384	152	355		
28	335	63	346	98	336	133	330	153	324		
29	357	64	360	99	316	134	323	154	338		
30	353	65	372	100	367	135	322	155	332		
31	344	66	359	101	374	121	351	156	338		
32	315	67	335	102	348	122	333	157	332		
33	380	68	345	103	337	123	352	158	337		
34	352	69	328	104	328	124	308	159	339		
35	334	70	355	105	343	125	354	160	310		

Anexos

ANEXOS

ANEXO A – Relatório da análise estatística do tipo de desgaste dentário e tipo de tratamento realizado

Two Way Analysis of Variance

Balanced Design

Dependent Variable: DESGASTE

Normality Test (Kolmogorov-Smirnov) Failed (P < 0,050)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENTO	7	86,251	12,322	34,158	<0,001
Tipo de DESGASTE	1	26,931	26,931	74,659	<0,001
TRATAMENTO x Tipo de DESGASTE	7	1,498	0,214	0,593	0,761
Residual	144	51,944	0,361		
Total	159	166,624	1,048		

The difference in the mean values among the different levels of TRATAMENTO is greater than would be expected by chance after allowing for effects of differences in Tipo de DESGASTE. There is a statistically significant difference (P = <0,001). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The difference in the mean values among the different levels of Tipo de DESGASTE is greater than would be expected by chance after allowing for effects of differences in TRATAMENTO. There is a statistically significant difference (P = <0,001). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The effect of different levels of TRATAMENTO does not depend on what level of Tipo de DESGASTE is present. There is not a statistically significant interaction between TRATAMENTO and Tipo de DESGASTE. (P = 0,761)

Power of performed test with alpha = 0,0500: for TRATAMENTO : 1,000

Power of performed test with alpha = 0,0500: for Tipo de DESGASTE : 1,000

Power of performed test with alpha = 0,0500: for TRATAMENTO x Tipo de DESGASTE : 0,0500

Least square means for TRATAMENTO :

Group Mean

1,000 5,821

2,000 3,722

3,000 3,680

4,000 4,631

5,000 3,791

6,000 3,481

7,000 3,820

8,000 3,655

Std Err of LS Mean = 0,134

Least square means for Tipo de DESGASTE :

Group Mean

ERO 3,665

ERO+ABR4,486

Std Err of LS Mean = 0,0671

Least square means for TRATAMENTO x Tipo de DESGASTE :

Group	Mean
1,000 x ERO	5,475
1,000 x ERO+ABR	6,167
2,000 x ERO	3,218
2,000 x ERO+ABR	4,227
3,000 x ERO	3,316
3,000 x ERO+ABR	4,043
4,000 x ERO	4,255
4,000 x ERO+ABR	5,007
5,000 x ERO	3,307
5,000 x ERO+ABR	4,275
6,000 x ERO	2,892
6,000 x ERO+ABR	4,070
7,000 x ERO	3,488
7,000 x ERO+ABR	4,152
8,000 x ERO	3,368
8,000 x ERO+ABR	3,943
Std Err of LS Mean = 0,190	

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **TRATAMENTO**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
1,000 vs. 6,000	2,340	8	17,423	<0,001	Yes
1,000 vs. 8,000	2,165	8	16,124	<0,001	Yes
1,000 vs. 3,000	2,141	8	15,942	<0,001	Yes
1,000 vs. 2,000	2,098	8	15,625	<0,001	Yes
1,000 vs. 5,000	2,030	8	15,115	<0,001	Yes
1,000 vs. 7,000	2,001	8	14,899	<0,001	Yes
1,000 vs. 4,000	1,190	8	8,857	<0,001	Yes
4,000 vs. 6,000	1,150	8	8,566	<0,001	Yes
4,000 vs. 8,000	0,976	8	7,267	<0,001	Yes
4,000 vs. 3,000	0,951	8	7,085	<0,001	Yes
4,000 vs. 2,000	0,909	8	6,768	<0,001	Yes
4,000 vs. 5,000	0,840	8	6,258	<0,001	Yes
4,000 vs. 7,000	0,811	8	6,041	<0,001	Yes
7,000 vs. 6,000	0,339	8	2,524	0,631	No
7,000 vs. 8,000	0,165	8	1,225	0,989	Do Not Test
7,000 vs. 3,000	0,140	8	1,043	0,996	Do Not Test
7,000 vs. 2,000	0,0975	8	0,726	1,000	Do Not Test
7,000 vs. 5,000	0,0290	8	0,216	1,000	Do Not Test
5,000 vs. 6,000	0,310	8	2,308	0,731	Do Not Test
5,000 vs. 8,000	0,136	8	1,009	0,997	Do Not Test
5,000 vs. 3,000	0,111	8	0,827	0,999	Do Not Test
5,000 vs. 2,000	0,0685	8	0,510	1,000	Do Not Test
2,000 vs. 6,000	0,241	8	1,798	0,910	Do Not Test
2,000 vs. 8,000	0,0670	8	0,499	1,000	Do Not Test
2,000 vs. 3,000	0,0426	8	0,317	1,000	Do Not Test
3,000 vs. 6,000	0,199	8	1,481	0,967	Do Not Test
3,000 vs. 8,000	0,0245	8	0,182	1,000	Do Not Test
8,000 vs. 6,000	0,174	8	1,299	0,984	Do Not Test

Comparisons for factor: **Tipo de DESGASTE**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
ERO+ABR vs. ERO	0,821	2	12,220	<0,001	Yes

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

ANEXO B – Relatório da análise estatística da biópsia do esmalte dentário**One Way Analysis of Variance**

Dependent Variable: Biópsia

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,970)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0,264)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
1,000	3	0	18,267	2,338	1,350
2,000	3	0	23,538	0,704	0,407
3,000	3	0	26,770	1,061	0,612
4,000	3	0	22,243	2,985	1,723
5,000	3	0	24,300	1,522	0,879
6,000	3	0	23,583	0,679	0,392
7,000	3	0	25,440	2,222	1,283
8,000	3	0	31,197	1,928	1,113

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	7	289,738	41,391	12,071	<0,001
Residual	16	54,862	3,429		
Total	23	344,600			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Tratamento**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
8,000 vs. 1,000	12,930	8	12,094	<0,001	Yes
8,000 vs. 4,000	8,953	8	8,375	<0,001	Yes
8,000 vs. 2,000	7,658	8	7,163	0,002	Yes
8,000 vs. 6,000	7,613	8	7,121	0,003	Yes
8,000 vs. 5,000	6,897	8	6,451	0,006	Yes
8,000 vs. 7,000	5,757	8	5,385	0,026	Yes
8,000 vs. 3,000	4,427	8	4,141	0,131	No
3,000 vs. 1,000	8,503	8	7,954	<0,001	Yes
3,000 vs. 4,000	4,527	8	4,234	0,117	No
3,000 vs. 2,000	3,232	8	3,023	0,434	Do Not Test
3,000 vs. 6,000	3,187	8	2,981	0,450	Do Not Test
3,000 vs. 5,000	2,470	8	2,310	0,725	Do Not Test
3,000 vs. 7,000	1,330	8	1,244	0,984	Do Not Test
7,000 vs. 1,000	7,173	8	6,710	0,004	Yes
7,000 vs. 4,000	3,197	8	2,990	0,446	Do Not Test
7,000 vs. 2,000	1,902	8	1,779	0,902	Do Not Test
7,000 vs. 6,000	1,857	8	1,737	0,912	Do Not Test
7,000 vs. 5,000	1,140	8	1,066	0,993	Do Not Test
5,000 vs. 1,000	6,033	8	5,643	0,018	Yes
5,000 vs. 4,000	2,057	8	1,924	0,862	Do Not Test
5,000 vs. 2,000	0,762	8	0,713	0,999	Do Not Test
5,000 vs. 6,000	0,717	8	0,670	1,000	Do Not Test
6,000 vs. 1,000	5,317	8	4,973	0,045	Yes
6,000 vs. 4,000	1,340	8	1,253	0,983	Do Not Test
6,000 vs. 2,000	0,0451	8	0,0422	1,000	Do Not Test
2,000 vs. 1,000	5,272	8	4,931	0,048	Yes
2,000 vs. 4,000	1,295	8	1,211	0,986	Do Not Test
4,000 vs. 1,000	3,977	8	3,720	0,215	No