MAISA CAMILLO JORDÃO

Efeito da irradiação dos lasers de CO_2 e Nd:YAG associados ou não ao fluoreto sobre dentina e esmalte hígidos e erodidos quando submetidos a erosão *in vitro*

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

Orientadora: Profª Drª Daniela Rios

Versão Corrigida

BAURU
2011

J761e

Jordão, Maisa Camillo
Efeito da irradiação dos lasers de CO_2 e Nd:YAG associados ou não ao fluoreto sobre dentina e esmalte hígidos e erodidos quando submetidos a erosão in vitro/ Maisa Camillo Jordão. – Bauru, 2011.
155 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Profª Drª Daniela Rios

A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca da Faculdade de Dissertações e teses na Faculdade de Bauru – FOB/USP

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

Assinatura:

Data:

(folha de aprovação)

Dados Curriculares

Maisa Camillo Jordão

Nascimento	22 de abril de 1985
Naturalidade	Tupã - SP
Filiação	Luis Francisco Quinzani Jordão Vera Lúcia Camillo Jordão
2005 - 2008	Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto – SP
2009 - 2011	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, nível de Mestrado, Área de Concentração Odontopediatria, pela Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo – Bauru – SP

DEDICATÓRIA

À Deus

Por me dar a chance de recomeçar todos os dias.

Senhor, obrigada por me amparar nos momentos de fraqueza, me fortalecer em sua fé e me fazer crer que através do amor posso encontrar o verdadeiro caminho da felicidade.

Aos meus pais Vera Lúcia e Luis Francisco

A vocês que sempre prezaram tanto pela minha formação pessoal e intelectual dedico este trabalho. Não foi fácil, mas em nenhum momento deixei de pensar que valeria a pena. Hoje entendo quando dizem que a educação é a maior herança que se pode deixar para um filho. Tudo o que conquistei até agora devo a vocês! Mãe, obrigada pelo apoio, amor incondicional e por escutar minhas reclamações e anseios sem exitar. Pai, obrigada por sempre me incentivar e por ser meu exemplo de ética e seriedade. Vocês são meu equilíbrio! Obrigada por muitas vezes abdicarem de seus sonhos para que os meus pudessem ser realizados. AMO MUITO VOCÊS!

À minha querida irmã Martha

Não existe melhor relação de amor e amizade entre duas pessoas do que a nossa. Má, mesmo você sendo mais nova, sempre me senti protegida por você! Obrigada pelo carinho e por sempre confiar a mim os seus segredos! Divido com você a alegria dessa vitória! Você é meu maior orgulho! TE AMO!

Ao meu amor Douglas

Que mesmo sem ter lido uma só página deste trabalho, através do seu amor e incentivo, esteve presente em todas elas. Gordo, obrigada pela paciência, pelo carinho e por entender os motivos pelos quais ficamos esses anos todos distantes um do outro. Em alguns finais de semana até mesmo para o laboratório te levei e você, com seu bom humor, nunca reclamou. Acredite, sua companhia fez toda diferença! TE AMO DEMAIS

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Daniela Rios

Agradeço pela orientação constante e pelas renúncias pessoais para estar ao meu lado. Sua dedicação sempre me impressionou! Obrigada por me fazer buscar o conhecimento e acreditar em mim! Sua confiança em mim depositada foi essencial para o meu desenvolvimento. Dani, acima de tudo obrigada pelo acolhimento e carinho com que sempre me recebeu. Por muitas vezes vi em você uma amiga, com quem eu podia expor meus sentimentos, anseios e dúvidas sem medo de ser julgada. Obrigada por reforçar meus conceitos de ética e me transmitir suas experiências profissionais com tanto carinho. À você meu eterno respeito e admiração!

À Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva pela dedicação e ensinamentos transmitidos a nossa turma de mestrado. Admiro sua seriedade e competência!

À Profa. Dra. Maria Aparecida Andrade Moreira Machado por acreditar na formação acadêmica e nos envolver com seu entusiasmo e dinamismo.

À Profa. Dra. Thais Marchini de Oliveira. Sua orientação transformou meus atendimentos em momentos especiais, fazendo com que eu ame ainda mais a Odontopediatria. Levarei comigo seu sorriso contagiante, sua simplicidade e a alegria com que você realiza seu trabalho. Obrigada pelo carinho e incentivo. Isso fez toda a diferença!

Aos Profs. Dr. Ruy César Camargo Abdo e Dr. José Eduardo de Oliveira Lima, pelos conselhos e conversas sinceras. A vocês meu respeito e admiração!

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

Aos colegas da Pós-Graduação em Odontopediatria, ***Vanessa, Ana Paula, Adriana, Juliana, Priscila, Tatiana, Ana Lídia, Natalino, Carla, Sileide, Susi e Akio,*** agradeço pela convivência, pelo carinho e pelos conhecimentos compartilhados. Desejo a cada um de vocês um caminho de muitas realizações e sucesso!

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.

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. A amizade e companhia de vocês tornou meu trabalho mais gratificante.

Aos funcionários e professores do LELO, em especial a ***Profa. Dra. Patrícia M. de Fretas*** pela acessoria e disponibilidade durante o desenvolvimento desse trabalho e ao ***Prof. Dr. Ricardo S. Navarro*** pela orientação durante as aplicações do laser, prontidão em responder meus questionamentos e dúvidas e maneira alegre com que sempre me recebeu. A parceria com vocês foi essencial para o desenvolvimento desse trabalho!

Aos ***alunos da graduação*** que me permitiram treinar a prática docente.

Aos meus ***"pequenos pacientes"***, que ao final de cada consulta me recompensaram com um grande sorriso e um abraço carinhoso, me trazendo a certeza de que escolhi a profissão certa.

À **FAPESP** pela concessão da bolsa de estudos durante o curso de mestrado

À todos que me receberam de braços abertos em Bauru, em especial as minhas amigas ***Lia*** e ***Thais***. A prontidão de vocês em me ajudar começou antes mesmo de eu chegar aqui. Thais, sua hospitalidade e carinho ao me receber me encantaram. Você e o Marcelo são especiais! Lia, sua doçura e a alegria são

contagiantes. Obrigada pelos momentos de convívio, que apesar de poucos foram inesquecíveis.

À ***Taruska***, pelo carinho e pelas risadas. Tata, foi um prazer dividir nosso cantinho com você! Te desejo muita sorte e felicidades nessa caminhada que está apenas começando.

À minha tia ***Berê*** que é um dos grandes motivos por eu estar aqui hoje. Sua dedicação e amor pela carreira acadêmica me despertaram a curiosidade e me fizeram iniciar por esse caminho. Obrigada por sempre escutar com paciência minhas indecisões e me aconselhar tão sabiamente. Minha admiração por você é enorme!

Aos meus tios ***Valdir*** e ***Mara*** e meus queridos primos ***João e Lú*** pela recepção tão carinhosa em minhas idas a São Paulo durante a realização deste trabalho. Obrigada pelo zelo e atenção! Vocês são especiais!

Aos meus avós ***Valdemar, Lica*** e ***Lourdinha*** pelo carinho e preocupação. Tenham certeza que suas orações, feitas com muito amor, sempre chegaram até mim. Ao meu avó ***Otoniel*** (*in memorian*). Mesmo sem te conhecer sei que existe um pouco de você em mim. Amo vocês!

Às minhas grandes amigas Luciana, Annelyze, Flávia e Janaína

Lú, mais do que uma grande amiga você foi minha confidente. Obrigada por sempre cuidar de mim com tanto carinho! Sua alegria é contagiante e tornou meus dias aqui em Bauru muito mais felizes. Obrigada pelas conversas, pelos conselhos sinceros, pelas risadas e gargalhadas, pela imensa disposição em ajudar, por sempre consolar meus choros e escutar meus desabafos com tanta paciência. Você tem um coração enorme e espero que mesmo com a distância e o passar dos anos eu sempre tenha meu lugarzinho reservado nele! Vou sempre levar comigo a beleza de nossa amizade. Você é inesquecível!

Anne, Fá e Jana, a relação que construímos durante esses dois anos é inexplicável! Desde o momento em que conheci vocês na prova de mestrado me identifiquei. Cada uma com seu jeitinho especial conquistou um lugar em meu coração. Os momentos que vivemos em Bauru estarão sempre registrados em minha memória! Obrigada pelas risadas, pelas conversas, pela paciência, por me ajudarem a encontrar o caminho certo em meus momentos de indecisão, enfim, por serem minha família em Bauru. Mesmo com todas as dificuldades que enfrentamos, estávamos sempre juntas e isso nos tornou, com certeza, muito mais fortes. A amizade de vocês foi essencial para mim e espero que apesar da distância continuemos sempre juntas, mesmo que em pensamento. Tudo que passamos aqui em Bauru foi inesquecível e valeu à pena graças a vocês!

Vocês merecem toda a felicidade desse mundo! Tenho certeza que cada uma de vocês, independente de onde estiverem e do que fizerem, desde que seja com amor, terão um futuro brilhante pela frente! Deus sempre mostrará os caminhos para isso!

Amo vocês!

"Depois de algum tempo, você aprende que verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias. E o que importa não é o que você tem na vida, mas quem você tem na vida. E que bons amigos são a família que nos permitiram escolher. Aprende que não temos que mudar de amigos se compreendemos que os amigos mudam. Percebe que seu melhor amigo e você podem fazer qualquer coisa, ou nada, e terem bons momentos juntos."
William Shakspeare

*À todos que torceram por mim e colaboraram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho o meu **MUITO OBRIGADA**!*

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais
voltará ao seu tamanho original."

Albert Einstein

"Quero, um dia, poder dizer às pessoas que nada foi em vão...
Que o amor existe, que vale a pena se doar às amizades e às pessoas,
que a vida é bela sim, e que eu sempre dei o melhor de mim...
e que valeu a pena."

Mário Quintana

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar in vitro o efeito de diferentes densidades de energia da irradiação com lasers de CO_2 e Nd:YAG sobre o esmalte e dentina quando submetidos a erosão (fase 1) e depois avaliar o efeito do melhor parâmetro associado ao fluoreto na diminuição da erosão dentária, quando aplicados sobre esmalte e dentina hígidos e previamente erodidos (fase 2). Além disso, na fase 1 foi avaliado o efeito do recobrimento das estruturas dentárias com pigmento (corante foto absorvente) no desempenho do laser de Nd:YAG. Na fase 1, 130 blocos de esmalte e 130 blocos de dentina (dente bovino), foram igualmente e aleatoriamente divididos em 13 grupos (n = 10): C- sem tratamento (controle), Nd1 e Nd5- irradiação com laser Nd:YAG (42,45 J/cm^2), Nd2 e Nd6- irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm^2), Nd3 e Nd7- irradiação com laser Nd:YAG (84,9 J/cm^2), Nd4 e Nd8- irradiação com laser Nd:YAG (99,05 J/cm^2), CO1 - irradiação com laser CO_2 (esmalte: 7,2 J/cm^2; dentina: 3,6 J/cm^2), CO2 - irradiação com laser CO_2 (esmalte: 14,4 J/cm^2; dentina: 7,2 J/cm^2), CO3 - irradiação com laser CO_2 (esmalte: 21,4 J/cm^2; dentina: 10,7 J/cm^2) e CO4 - irradiação com laser CO_2 (esmalte: 28,8 J/cm^2, dentina: 14,4 J/cm^2). Nos grupos Nd5-9 foi feita aplicação de corante a base de carvão antes da irradiação com laser Nd:YAG. Antes da irradiação os blocos tiveram 2/3 de suas superfícies protegidas com esmalte cosmético para realização da perfilometria. Após a irradiação, os blocos foram submetidos à ciclagem erosiva, composta por 4 imersões diárias em bebida ácida por 2 minutos, seguida pela imersão em saliva artificial por 2 h, durante 5 dias. A perda de esmalte e dentina foram avaliados por meio da perfilometria após a aplicação do laser e após o 1º e 5º dia de ciclagem erosiva. Na segunda fase foi utilizado o grupo que obteve o melhor resultado numérico ou estatístico quanto à diminuição do desgaste. Assim 120 blocos de cada tipo de substrato foram divididos em 12 grupos (n = 10): C - controle sem erosão prévia; C+EP - controle com erosão prévia; Nd:YAG - irradiação com laser Nd:YAG (esmalte: 56,6 J/cm^2 e dentina: 42,45 J/cm^2); EP+Nd:YAG - erosão prévia seguida da irradiação com laser Nd:YAG; F - aplicação de AmF (1% F); EP+F - erosão prévia e posterior aplicação de AmF (1% F); Nd:YAG+F - irradiação com laser Nd:YAG e posterior aplicação de AmF (1% F); EP+Nd:YAG+F - erosão prévia seguida da irradiação com laser Nd:YAG e posterior aplicação de AmF (1% F); CO_2

- irradiação com laser CO_2 (esmalte: 28,6 J/cm^2 e dentina: 10,7 J/cm^2); EP+CO_2 - erosão prévia seguida da irradiação com laser CO_2; CO_2+F - irradiação com laser CO_2 e posterior aplicação de AmF (1% F); EP+CO_2+F - erosão prévia seguida da irradiação com laser CO_2 e posterior aplicação de AmF (1% F). Assim como na 1ª fase, antes da irradiação, os blocos foram protegidos (2/3) e após os tratamentos, os blocos foram submetidos à ciclagem erosiva previamente descrita. Os blocos foram avaliados por perfilometria como descrito. Os resultados foram submetidos à ANOVA ou Kruskal Wallis e Teste de Tukey ($p<0,05$), sendo que os dois tipos de lasers foram avaliados separadamente. Os diversos parâmetros do laser Nd:YAG não apresentam efeito preventivo em relação à erosão dentária independentemente do corante foto absorvente. Para o CO_2 apenas as densidades de energia de 28,8 J/cm^2 para o esmalte e 10,7 J/cm^2 para a dentina apresentaram este efeito. A estrutura dentária previamente erodida resulta em maior desgaste quando comparada à estrutura hígida. A utilização de fluoreto na maioria das situações apresentou efeito preventivo em relação à erosão, no entanto a associação do fluoreto ao laser não apresentou efeito sinérgico, tendo sido observada uma diminuição do efeito preventivo do fluoreto. Considerando esses resultados, para os pacientes com risco de erosão dentária, a aplicação de fluoreto ainda é o tratamento com melhor resultado preventivo em relação à erosão dental.

Palavras chave: erosão dentária, laser, fluoreto

ABSTRACT

Effect of CO_2 and Nd:YAG laser irradiation associated or not with fluoride on sound and eroded enamel and dentine when submitted to erosion *in vitro*

This study aimed to evaluate the in vitro effect of different irradiation power densities of CO_2 and Nd:YAG lasers on enamel and dentine when eroded (phase 1). To evaluate the effect of fluoride associated with the best parameter of laser able to reduce dental erosion considering sound and previously eroded enamel and dentine (phase 2). Furthermore, in phase 1 the application of an absorbing photo dye was evaluated on the performance of Nd:YAG. In phase 1, 130 enamel blocks and 130 dentine blocks, were equally and randomly divided into 13 groups (n = 10): C - untreated (control), Nd1 and Nd5 - irradiation with Nd:YAG laser (42.45 J/cm^2), Nd2 and Nd6 - irradiation with Nd:YAG laser (56.6 J/cm^2), Nd3 and Nd7 - irradiation with Nd:YAG laser (84.9 J/cm^2), Nd4 and Nd8 - irradiation with Nd:YAG laser (99.05 J/cm^2), CO1 - CO_2 laser irradiation (enamel: 7.2 J/cm^2; dentine: 3.6 J/cm^2), CO2 - CO_2 laser irradiation (enamel: 14.4 J/cm^2; dentine: 7.2 J/cm^2), CO3 - CO_2 laser irradiation (enamel: 21.4 J/cm^2; dentine: 10.7 J/cm^2) and CO4 - CO_2 laser irradiation (enamel: 28.8 J/cm^2, dentine: 14.4 J/cm^2). In groups Nd5 to 9 coal-paste dye was applied before Nd:YAG laser irradiation. Before irradiation 2/3 of the blocks surfaces were protected with nail varnish for performing the profilometry. After irradiation, the blocks were submitted to four erosive 2-min cycles, followed by immersion in artificial saliva for 2 h for 5 days. Enamel and dentine losses were evaluated by profilometry after laser application and after 1 and 5 days of erosive cycling. In the second phase, the group that obtained the best numerical or statistical result was used. So 120 enamel and dentine blocks were divided into 12 groups (n = 10): C - control without prior erosion; C+EP - control with prior erosion; Nd:YAG - laser irradiation with Nd:YAG (enamel: 56.6 J/cm^2 and dentin: 42.45 J/cm^2); EP+Nd:YAG - prior erosion followed by Nd:YAG irradiation; F - AmF (1% F) application; F+EP - erosion prior subsequent AmF (1% F) application; Nd:YAG+F - irradiation with Nd:YAG laser and subsequent AmF (1% F) application; EP+Nd:YAG+F - prior erosion followed by Nd:YAG irradiation and subsequent AmF (1% F) application; CO2 - CO_2 laser irradiation (enamel: 28.6 J/cm^2 and dentin: 10.7 J/cm^2); EP+CO2 - prior erosion followed by CO_2 laser irradiation , F+CO2 - CO_2 laser irradiation and subsequent

AmF (1% F) application; F+EP+CO2 - erosion prior CO_2 laser irradiation and subsequent AmF (1% F) application. As in stage 1, before irradiation, the blocks were protected (2/3) and after the treatments, the blocks were subjected to erosive cycling as previously described. The dental loss was evaluated by profilometry as described. The lasers were analyzed separated. The results were submitted to ANOVA or Kruskal Wallis (as passed or not in the normal curve) and Tukey test ($p<0.05$). The various parameters of Nd:YAG laser did not present effect in relation to dental erosion regardless of the use of photo absorbent dye. In relation to CO_2 laser only the energy densities of 28.8 J/cm^2 for enamel and 10.7 J/cm^2 for dentin showed some preventive effect. The previously eroded substrate resulted in greater wear when compared to sound one. Generally, fluoride had some preventive effect against erosion. However, the combination of fluoride to the laser showed no synergistic effect, since it was observed a decrease in fluoride preventive effect. Considering these results, for patients at high risk for dental erosion, application of fluoride is still the best preventive treatment.

Keywords: dental erosion, laser, fluoride

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Bloco de esmalte obtido de coroa dental bovina 64

Figura 2 - Bloco de dentina obtido de raiz dental bovina 64

Figura 3 - Realização da endentação inicial dos blocos em microdurômetro com ponta Knoop 65

Figura 4 - Sequência de proteção dos blocos com esmalte de unha cosmético 67

Figura 5 - Aparelho do laser de Nd:YAG 67

Figura 6 - Aparelho do laser de CO_2 67

Figura 7 - Desmineralização dos blocos por refrigerante ácido 69

Figura 8 - Remineralização dos blocos em saliva artificial 69

Figura 9 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **Nd:YAG**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste cumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias) 80

Figura 10 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **Nd:YAG** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) 80

Figura 11 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **Nd:YAG**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias) 82

Figura 12 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **Nd:YAG** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) 82

Figura 13 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **CO_2**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias) 83

Figura 14 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **CO_2** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) 84

Figura 15 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **CO_2**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias)..... 85

Figura 16 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **CO_2** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) 85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **Nd:YAG** 70

Tabela 2 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **Nd:YAG** 70

Tabela 3 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **CO_2** 70

Tabela 4 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **CO_2** 71

Tabela 5 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **Nd:YAG** 74

Tabela 6 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **Nd:YAG** 74

Tabela 7 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **CO_2** 75

Tabela 8 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **CO_2** 75

Tabela 9 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos 86

Tabela 10 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva 87

Tabela 11 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem erosiva 88

Tabela 12 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte** 89

Tabela 13 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**..... 90

Tabela 14 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos 91

Tabela 15 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva..... 92

Tabela 16 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem dentina 93

Tabela 17 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina** 93

Tabela 18 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina** 94

Tabela 19 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos 95

Tabela 20 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva..... 96

Tabela 21 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem erosiva..... 97

Tabela 22 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**..... 98

Tabela 23 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**..... 99

Tabela 24 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos 100

Tabela 25 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva..... 100

Tabela 26 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem 101

Tabela 27 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina** 102

Tabela 28 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina** 103

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

α	alfa
β	beta
≅	aproximadamente
°C	grau(s) Celsius
±	mais ou menos
®	marca registrada
>	maior que
<	menor que
µm	micrometro(s)
µs	microssegundo(s)
%	porcentagem
cm	centímetro(s)
cm^{-1}	inverso do centímetro
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 ($Y_3Al_5O_{12}$) dopado com érbio (Er^{3+})
F	fluoreto
FA	fluorapatita
FFA	flúor fosfato acidulado
g	grama(s)
h	hora
HA	hidroxiapatita
Hz	hertz
In situ	em sítio, no local (no caso, cavidade bucal) (latim)
In vitro	em laboratório (latim)
In vivo	em ser humano (latim)
J/cm^2	joules por centímetro quadrado
KHN	número de dureza knoop
M	mola

MMPs	metaloproteinases de matriz
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 ($Y_3Al_5O_{12}$) dopado com neodímio (Nd^{3+})
ns	nanossegundo(s)
OH^-	íon hidroxila
Overnight	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 - Erosão dentária 33

2.1.1 - Definição e etiologia 33

2.1.2 - Prevenção e controle das lesões 38

2.2 - Fluoreto 39

2.3 - Laser 43

2.4 - Associação entre fluoreto e laser 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 e dentina 62

4.3 - Avaliação da Microdureza Superficial Inicial 64

4.4 - Fase 1: Seleção da potência dos lasers 65

4.4.1 - Tratamento dos blocos 65

4.4.2 - Perfil Inicial 67

4.5 - Protocolo do estudo *in vitro* 68

4.5.1 - Ciclagem Erosiva 68

4.5.2 - Avaliação do desgaste - perfil no 1º e 5º dia 69

4.6 - Análise estatística 69

4.7 - Fase 2: Utilização da melhor potência, associada ou não a aplicação de fluoreto, na ausência ou presença de erosão prévia 71

4.7.1 - Formação de lesões artificiais de erosão 71

4.7.2 - Tratamento dos blocos 71

4.7.3 - Tratamento com laser CO_2 e fluoreto 72

4.7.4 - Perfil Inicial 73

4.8 - Protocolo do estudo *in vitro* 73

4.8.1 - Avaliação do desgaste - perfil final 73

4.9 - Análise estatística 74

5 - RESULTADOS 77

5.1 - Primeira fase 79

5.1.1 - Resultados do laser de Nd:YAG 79

5.1.1.1 - Esmalte 79

5.1.1.2 - Dentina 81

5.1.2 - Resultados do laser de CO_2 83

5.1.2.1 - Esmalte 83

5.1.2.2 - Dentina 84

5.2 - Segunda fase 86

5.2.1 - Resultados do laser de Nd:YAG 86

5.2.1.1 - Esmalte 86

5.2.1.2 - Dentina 90

5.2.2 - Resultados do laser de CO_2 94

5.2.2.1 - Esmalte 94

5.2.2.2 - Dentina 99

6 - DISCUSSÃO 105

6.1 - Metodologia empregada 107

6.2 - Resultados 111

6.2.1 - Primeira fase 111

6.2.2 - Segunda fase 118

7 - CONCLUSÃO 123

8 - REFERÊNCIAS 127

APÊNDICE 149

1 Introdução

1- INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, com o declínio da prevalência de cárie nos países desenvolvidos, assim como no Brasil (PETERSON; BRATHALL, 1996; BRASIL SORRIDENTE, 2008), outras alterações bucais tem sido diagnosticadas, destacando-se a erosão dentária (JAEGGI; LUSSI, 2006).

A erosão dentária constitui-se na perda superficial de estrutura dentária devido à ação de ácidos, sem envolvimento de microrganismos, (IMFELD, 1996; ECCLES, 1979; ZERO, 1996; MEURMAN; TEN CATE, 1996; LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; LUSSI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b). Estes ácidos podem ser oriundos do próprio organismo, como o ácido clorídrico do estômago em episódios de refluxo gastroesofágico ou vômitos recorrentes, ou ainda se originarem da dieta.

A dieta que sabidamente causa erosão inclui todos os tipos de alimentos e bebidas ácidas com baixa concentração de cálcio e fosfato. Os agentes erosivos caracterizam-se por apresentarem menor concentração de cálcio, fósforo e fluoreto, o que os torna subsaturados em relação à hidroxiapatita e à fluoridroxiapatita (BARBOUR et al., 2003). Estas informações fazem com que seja dada maior atenção ao consumo de bebidas ácidas tais como os refrigerantes, sucos de frutas, chás e bebidas isotônicas (MORGAN; STULTS; STAMPLEY, 1985; PHELAN; REES, 2003; MEURMAN et al., 1990). O potencial erosivo de uma substância depende também de sua capacidade tampão, de suas propriedades quelantes e da adesão desta à superfície dentária (LUSSI, JAEGGI, ZERO, 2004).

Em vista do maior consumo de bebidas ácidas, sobretudo de refrigerantes, muitas 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 através 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 a remineralização do substrato dental, tais como a utilização do fluoreto (WIEGAND; ATTIN, 2003).

A disponibilidade de fluoretos em altas concentrações e elevada freqüência de aplicação tem sido uma alternativa para aumentar a resistência dos substratos dentais a subseqüentes desafios erosivos (GANSS et al., 2001; LAGERWEIJ et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b). O efeito protetor do fluoreto é resultado da precipitação de fluoreto de cálcio (CaF_2-) na superfície dental (SAXEGAARD; ROLLA, 1988). Essa camada de CaF_2 pode agir como uma barreira física, impedindo o contato direto do ácido com o substrato dental. Porém essa camada protetora é facilmente dissolvida pela ação dos ácidos, tornando limitada a eficácia do fluoreto na prevenção de lesões erosivas (GANSS; SCHLUETER; KLIMEK, 2007). Além disso, durante o desafio erosivo o fluoreto de cálcio libera íons flúor que podem contribuir para essa proteção, pois estes são subsequentemente incorporados ao esmalte dental como hidroxiapatita ou fluorapatita, resultando na redução de sua dissolução. Estudos têm demonstrado que diferentes tipos de laser como Nd:YAG e CO_2, com diferentes parâmetros, aplicados na superfície dentária tem sido utilizados para aumentar a resistência do esmalte e da dentina em relação à cárie dentária (VLACIC; MEYERS; WALSH, 2007; RODRIGUES et al., 2004; HOSSAIN et al., 2002; ZEZELL et al., 2009). Tendo em vista este aumento de resistência em relação aos ácidos provenientes dos microrganismos, este procedimento também poderia ser eficaz para prevenir a ação de ácidos que resultam em erosão dentária.

O laser Nd:YAG é considerado um laser eficaz para a prevenção da cárie dentária. Seu efeito de aquecimento sobre a superfície do esmalte (ZEZELL et al., 2009; ANDRADE et al., 2007; ANTUNES et al., 2005) induz mudanças na estrutura do esmalte e na composição dos cristais, as quais favorecem um aumento na resistência do esmalte à desmineralização subsuperficial (FOWLER; KURODA, 1986). No entanto, ao contrário do que acontece com os tecidos pigmentados, o comprimento de onda do laser Nd:YAG (λ = 1064 nm) não é efetivamente absorvida pelo esmalte dental (coeficiente de absorção é menor que 4×10^{-2} cm^{-1}) (FOWLER; KURODA, 1986; FEATHERSTONE, 2000) e, portanto, o uso de foto absorventes antes de sua irradiação em tecidos dentais duros é relatada (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. Neste caso, o processo de calor produzido devido à absorção do laser pelo material de cobertura (foto absorvente) é transmitido para o esmalte adjacente. Este

processo garante o depósito de uma energia de curto pulso de laser, em um pequeno volume de tecido, evitando a penetração excessiva do feixe de laser nas estruturas dentais e, conseqüentemente, diminuindo o risco de dano à polpa dentária. 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. Neste mesmo trabalho os autores mostraram que a irradiação a laser com 84,9 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).

Com relação à erosão, Rios et al. (2009) demonstraram in vitro que tanto a aplicação individual de laser (Nd:YAG) ou de fluoreto, quanto a associação de ambos foi capaz de reduzir o desgaste do esmalte após desafio erosivo. Entretanto, este resultado foi expressivo até a 5ª ciclagem erosiva, após a 10ª ciclagem não houve diferença estatística entre a aplicação prévia de laser e o grupo controle. O laser Nd:YAG foi utilizado com parâmetros de 0,5 W (35 J/cm^2), 0,75 W (52,5 J/cm^2) e 1 W (70 J/cm^2), no entanto não foi utilizado nenhum foto absorvente. Desta forma, os resultados poderiam ser diferentes, sendo que um maior potencial preventivo poderia ser especulado, com a utilização dos mesmos. No substrato dentinário, Magalhães et al. (2008a) demonstraram in vitro que a aplicação individual de laser de Nd:YAG não foi capaz de diminuir a erosão da dentina. Especula-se que diferentes parâmetros na aplicação laser e a utilização de pigmentação da superfície poderiam resultar em proteção em relação à erosão.

O laser de CO_2 também tem sido relatado como um importante método para a prevenção de desmineralização por cárie, pois também é capaz de alterar física e quimicamente a estrutura de esmalte resultando em inibição da progressão contra lesões cariosas (NELSON et al., 1986). Apesar de poucos trabalhos em relação à erosão, alguns estudos *in vitro*, utilizando apenas um parâmetro de aplicação, demonstraram que o laser de CO_2 por si só não foi capaz de evitar a erosão do esmalte e da dentina (WIEGAND et al., 2010a; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010). Por outro lado a combinação do laser com fluoreto apresentou algum efeito

protetor. Supõe-se que a associação entre laser e fluoreto pode apresentar efeito preventivo

sinérgico, entretanto esta suposição ainda não foi comprovada. Ao se falar da aplicação do laser para prevenir erosão, deve-se salientar que idealmente o paciente deve apresentar esmalte e dentina hígidos. No entanto, para aqueles pacientes que apresentam erosão em estágio inicial e não necessitam de tratamento restaurador, mas requerem um tempo para mudança de hábitos ou tratamento médico, a confirmação de que a utilização do laser poderia ser uma medida para evitar a progressão das lesões seria favorável. Desta forma, a utilização do laser em superfícies previamente erodidas deve ser estudada.

Diante do exposto, nota-se que o tipo de laser, sua forma e parâmetros de utilização ainda não foram extensivamente abordados pela literatura quando se pretende utilizá-lo para prevenir o desenvolvimento da erosão dentária. Também são necessários mais estudos que associem a aplicação do laser ao uso de fluoretos, para que realmente se possa comprovar um possível aumento da proteção da estrutura dental aos desafios erosivos através dessa união. Após o esclarecimento destes tópicos em estudos laboratoriais, o laser e sua associação com o fluoreto deverão ser testados quanto às alterações térmicas das estruturas dentárias e modelos *in situ* deverão ser conduzidos antes dos testes clínicos.

2 Revisão de Literatura

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Erosão dentária

2.1.1 - Definição e etiologia

O declínio na prevalência de cárie, associado ao aumento da expectativa de vida, tem contribuído para a manutenção de um maior número de elementos dentais em adultos e idosos (NUNN, 1996). Conseqüentemente, mais superfícies estão sob o risco de desgaste, que se manifesta através de processos erosivos, abrasivos e de fadiga (ADDY; SHELLIS, 2006). Apesar de ainda não haver um consenso na diferenciação entre o desgaste patológico e o fisiológico (KREULEN et al., 2010), já se verificou um aumento da taxa de erosão nos grupos etários mais jovens (JAEGGI; LUSSI, 2006; AUAD et al., 2007; GURGEL et al., 2011), sendo importante o diagnóstico precoce para que medidas preventivas sejam implementadas, minimizando as conseqüências da erosão (VARGAS-FERREIRA; PRAETZEL; ARDENGHI, 2010).

O termo clínico erosão dentária pode ser definido de forma mais completa como o resultado físico de uma perda de tecido duro da superfície dentária de forma localizada, crônica, patológica e irreversível, provocada por ácidos e/ou quelantes, sem o envolvimento de bactérias (ten CATE; IMFELD, 1996). Esta, assim como muitas doenças da cavidade bucal, como a cárie dentária e a doença periodontal, pode ser caracterizada como uma desordem de etiologia multifatorial (ZERO,1996; LUSSI, HELLWIG, 2006; LUSSI, 2006). Fatores biológicos, comportamentais e químicos estão em constante interação com a superfície dental podendo tanto desgastá-la como protegê-la (LUSSI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b).

Durante o processo erosivo, a desmineralização acontece pela interação entre os agentes erosivos e o substrato dentário. Para tal, primeiramente o ácido deve difundir-se através da placa dentária (caso esteja presente), seguindo através da película adquirida que recobre a superfície dental (sendo esta uma barreira orgânica derivada de proteínas salivares e lipídios) e, por último, pela camada de proteína e lipídios dos próprios cristais (ZERO; LUSSI, 2005; FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

O processo químico da erosão pode ocorrer através da dissolução dos cristais pelos íons hidrogênio derivados de ácidos fortes ou fracos, ou pela ligação dos ânions com o complexo de cálcio (propriedade quelante da bebida) (ZERO; LUSSI, 2005; FEATHERSTONE; LUSSI, 2006). Morfologicamente os ácidos irão promover uma dissolução na área interprismática ou nos próprios prismas de esmalte, exibindo uma estrutura de "favo de mel" nessa região. No esmalte aprismático, a dissolução é irregular, sem estrutura padrão. Este mesmo processo ocorre na dentina, porém de maneira mais complexa. A desmineralização inicia-se na região peritubular, seguindo em direção a dentina intertubular. Devido à alta concentração de matriz orgânica, a difusão dos agentes desmineralizadores em regiões mais profundas é dificultada (HARA et al., 2005). Isto porque esta matriz tem uma capacidade tamponante suficiente para promover o retardo da desmineralização (ZERO; LUSSI, 2005). No entanto a degradação química e mecânica da matriz dentinária facilita a desmineralização da dentina (KLETER et al., 1994). A degradação da dentina pode ser afetada por enzimas derivadas do hospedeiro, tais como as metaloproteinases de matriz (MMPs), que estão presentes na saliva e tecidos dentários duros (MAKELA et al., 1994). As MMPs derivadas do hospedeiro podem ser responsáveis pela degradação da matriz em lesões de cárie. Especialmente as colagenases MMP-8 e MMP-2 e 9 estão relacionados com a degradação da matriz de colágeno na dentina (SULKALA et al., 2007; MAZZONI et al., 2009). Tjaderhane et al (1998) mostraram que as formas latentes destas enzimas são ativadas quando o pH cai na presença de ácidos provenientes de desafios cariogênicos. A posterior neutralização pelo sistema tampão da saliva aumenta a atividade de degradação da matriz orgânica. Apesar de poucos estudos avaliarem o papel das MMPs na erosão dental, especula-se que nessas condições a degradação da matriz orgânica dentinária seja afetada por processos similares aos da cárie. O processo erosivo será interrompido somente quando substâncias ácidas e/ou quelantes não forem mais fornecidas (ZERO; LUSSI, 2005).

A maioria das substâncias, que possue pH baixo, apresenta capacidade de causar erosão dentária. No entanto, o potencial erosivo de uma bebida não depende exclusivamente do valor do seu pH, mas também do seu conteúdo mineral, da sua "capacidade tampão" e da sua propriedade quelante (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004). A quantidade de cálcio, fosfato e fluoreto de uma bebida ou alimento

determinam o grau de saturação desta em relação aos minerais do dente. Bebidas supersaturadas em relação ao substrato dental apresentam um baixo potencial erosivo (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006). Bebidas que apresentam propriedade quelante em relação ao cálcio podem aumentar o processo erosivo quando ingeridas. Por terem grande afinidade pelos íons cálcio, se ligam a eles, retirando-os do substrato dentário e da própria saliva, favorecendo a desmineralização da superfície dental. O efeito tampão se refere à capacidade da solução em resistir a mudança de pH. Assim, quanto maior a capacidade tampão de uma bebida ou comida ácida, maior será o tempo que a saliva levará para neutralizar o ácido, aumentando o processo de dissolução do substrato dentário (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004).

Larsen e Nyvad (1999) compararam o pH, a concentração de cálcio, fosfato e fluoreto e a capacidade tampão ao efeito erosivo e à solubilidade da apatita, utilizando 18 bebidas. A capacidade tampão foi determinada por titulação com NaOH. Dentes humanos protegidos com esmalte, exceto em área de 3x4 mm, foram expostos a 1,5 litros de cada bebida por 7 dias. A profundidade da erosão foi avaliada em secções longitudinais através de microrradiografias. Os refrigerantes e o suco de laranja foram as bebidas que mais provocaram erosão. A dissolução do esmalte aumentou inversamente ao pH da bebida e paralelamente a solubilidade da apatita do esmalte. O suco de laranja (pH 4,0), suplementado com 40 mmol/L de cálcio e 30 mmol/L de fosfato, apesar de seu baixo pH e sua alta capacidade tampão, não provocou erosão no esmalte, mostrando que a presença desses minerais influencia no processo erosivo. Em geral, quanto menor o pH, maior foi a quantidade de NaOH necessária para ajustá-lo à neutralidade. A bebida a base de cola apresentou pH 2,4, efeito tampão de 25 mmol/L (para pH 7) e até 2 mm de profundidade da lesão de erosão. Em todas as bebidas, a baixa concentração de fluoreto não causou nenhum efeito sobre a erosão.

Fatores biológicos como saliva, película adquirida, estrutura, anatomia, composição do dente e posicionamento deste em relação a língua e aos tecidos moles, estão relacionados ao desenvolvimento da erosão (ZERO, 1996; MAGALHÃES et al., 2009b). A saliva, por conter propriedades protetoras e desempenhar papel importante na formação da película adquirida, pode ser considerada o fator biológico mais importante na prevenção da erosão dental

(HARA; LUSSI; ZERO, 2006). Sua proteção começa antes mesmo do início do ataque ácido, com o aumento do fluxo salivar em resposta aos estímulos extra bucais, como olfato (LEE; LINDEN, 1992) e visão (CHRISTENSEN; NAVAZESH, 1984). Um maior fluxo salivar aumenta a capacidade de neutralização e tamponamento da saliva, assim como a capacidade de remineralização da superfície dental (EISENBURGER et al., 2001; RIOS et al., 2006; RIOS et al., 2008a). Entretanto, esses fatores preventivos e reparadores da saliva podem não ser suficientes para conter grandes desafios erosivos, levando ao desenvolvimento da erosão. A saliva também desempenha papel importante na formação da película adquirida, que atua como uma membrana com permeabilidade seletiva, que impede o contato direto entre o ácido e a superfície dental (ZAHRADNIK; MORENO; BURKE, 1976; MEURMAN, FRANK, 1991; AMAECHI et al., 1999), reduzindo o grau de dissolução da hidroxiapatita (LENDENMANN; GROGAN; OPPENHEIM, 2000). Hara et al. (2006) concluíram que sua proteção é limitada a pequenos desafios erosivos na superfície do esmalte, não promovendo a mesma proteção em dentina. Esta camada, que contem como componente principal a proteína, é novamente formada na superfície dental logo após sua remoção pela escovação com dentifrício, profilaxia ou dissolução química (HARA; LUSSI; ZERO, 2006). O nível de proteção da película é controlado pela sua composição, espessura e tempo de maturação, sendo que quanto mais madura e espessa, maior será a proteção que esta irá proporcionar (AMAECHI et al., 1999; ZERO; LUSSI, 2005).

Autores também sugerem que a placa dental formada sobre a película adquirida poderia agir como uma barreira adicional para a preservação do esmalte (HANNIG et al., 2004; HARA; LUSSI; ZERO, 2006; HONÓRIO et al., 2010a; HONÓRIO et al., 2010b), promovendo uma proteção deste contra o amolecimento e perda tecidual (HONÓRIO et al., 2008). Honório et al. (2010a) mostraram em estudo *in situ* que a placa dental protegeu a superfície do esmalte contra a erosão provocada por uma bebida ácida (Coca Cola ®), reduzindo a profundidade do desgaste desta superfície e sua porcentagem de perda de dureza superficial. Este pode ser o motivo para a relativa proteção da região cervical da coroa contra a erosão, uma vez que esta é uma área de retenção e acúmulo de placa dental.

Durante e após um desafio erosivo, fatores comportamentais também são relevantes quanto a extenção do desgaste dentário (MAGALHÃES et al., 2009b). A

maneira como os alimentos e bebidas ácidas são introduzidos na boca (gole, sorvendo, uso de canudo) interfere no tempo em que os dentes ficam em contato com o ácido (EDWARDS et al., 1998). Além disso, a hora do dia e a freqüência de exposição a um agente erosivo é de suma importância. A exposição noturna à agentes erosivos pode ser particularmente destrutiva por causa da ausência do fluxo salivar neste período (ZERO; LUSSI, 2006).

Lussi (2006) ressaltou que nas últimas décadas houve uma mudança no estilo de vida da população, ocorrendo um aumento no consumo de alimentos e bebidas ácidas. Em crianças e adolescentes foi significante a redução no consumo de leite e água, em decorrência do aumento na frequência e quantidade de ingestão de refrigerantes e sucos de frutas (TAHMASSEBI et al., 2006). No Brasil, Monteiro, Mondini e Costa (2000) avaliaram as mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas entre os anos de 1988 e 1996. Observou-se uma redução no consumo de verduras, legumes, frutas e sucos naturais e um aumento no consumo de açúcar e refrigerantes.

Dados recentes registraram que o Brasil é o terceiro maior mercado de refrigerantes do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos e do México. Embora com consumo per capita ainda baixo (cerca de 78,5 litros/ano), houve uma taxa de crescimento no consumo de refrigerantes entre 2007 e 2008 de 2,6% ao ano, sendo que o sabor cola continua dominando mais da metade do mercado. Entre 2004 e 2008 também houve um crescimento acelerado da disponibilidade para o consumo dos refrescos e sucos de frutas prontos para beber, chegando a cerca de 13% ao ano (ABIR, 2011).

Por outro lado, parte da população busca por um estilo de vida saudável, através da prática regular de exercícios e pelo consumo de uma dieta rica em frutas e vegetais. Esses tendem a ingerir com mais freqüência, principalmente após a prática esportiva, bebidas ácidas como isotônicos e sucos, como forma de repor a energia que necessitam, através da manutenção do nível de minerais e fornecimento de carboidratos (MILOSEVIC; KELLY; MCLEAN, 1997). A previsão para 2012 é que devido ao aumento da preocupação com questões de saúde, o consumo de bebidas à base de soja, sucos e refrigerantes (liderados pelas opções de baixa caloria) também seja impulsionado (ABIR, 2011). Além disso, essa parcela da população acaba por cuidar mais da higiene bucal do que a média da população (ZERO,

LUSSI, 2006). Apesar de comprovado que uma boa higiene bucal é imprescindível na prevenção da doença periodontal e da cárie dental, a escovação freqüente com produtos abrasivos após o consumo de substâncias ácidas pode aumentar o desgaste dentário (ADDY, SHELLIS, 2006; MAGALHÃES et al., 2008b; RIOS et al., 2008b; RIOS et al., 2011). Isto porque a desmineralização que ocorre logo após o consumo de ácidos é reversível, sendo que a superfície dentária ainda pode ser remineralizada pelos minerais presentes na saliva. No entanto, o esmalte inicialmente desmineralizado por ação ácida pode ser facilmente removido pela ação mecânica da escovação, o que acelera o processo erosivo (ZERO; LUSSI, 2006).

Assim como estilos de vida pouco saudáveis, o consumo de algumas medicações ou de drogas ilegais, são outros fatores comportamentais importantes, que aumentam o risco ao desenvolvimento de lesões de erosão (LUSSI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b). Pacientes que apresentam doença do refluxo gastroesofágico, alcoolismo crônico e distúrbios psicossomáticos (por vômitos, como parte da anorexia ou bulimia) (RYTOMAA et al., 1998; O'SULLIVAN et al., 1998; ZERO, 1996; SCHEUTZEL, 1996; BARTLETT, 2006), também se encontram mais predispostos a apresentarem erosão dental.

2.1.1.2 - Prevenção e controle das lesões

As estratégias para o controle do desgaste dental 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). 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). 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.

Autores sugerem que seja feito um aconselhamento dietético através da análise do histórico da dieta (LUSSI et al., 2006), proporcionando ao profissional um perfil detalhado dos hábitos diários do paciente. 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 (LUSSI, 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 a hipersensibilidade dentária e prejuízo da estética, sendo necessária a reabilitação bucal nos casos mais avançados (LAMBRECHTS et al.,1996; JAEGGI; GRÜNINGER; LUSSI, 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).

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 já 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).

2.2 - Fluoreto

A eficácia da utilização de fluoretos na prevenção de lesões de cárie já foi comprovada (ten CATE, 1997). 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 significante na inibição da cárie em dentes permanentes. Marinho et al. (2003), em revisão sistemática, também confirmam que a aplicação de fluoreto gel, tanto por profissionais quanto auto-aplicado, 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). O uso de dentifrícios fluoretados é a forma mais freqüente 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 (5,000 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 conseqüência dos resultados, os pacientes com risco de sofrer erosão em esmalte deveram se beneficiar de outras medidas preventivas. Porém enfatizaram a necessidade de realização de futuros estudos para confirmação destes resultados. Posteriormente Magalhães et al. (2008b) realizaram um estudo *in situ/ex vivo* sobre a ação de dentifrícios fluoretados, de diferentes concentrações, na dentina submetida a desafios erosivos e/ou abrasivos e o fluoreto foi capaz de reduzir o desgaste em dentina, independente da sua concentração. No entanto, apesar de o uso de dentifrício fluoretado diminuir o desgaste dentário, a escovação deve ser

evitada imediatamente depois do ataque erosivo para aqueles pacientes de risco em relação à erosão (WIEGAND; ATTIN, 2003).

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 (SnF_2) e fluoreto de amina (AmF). Mais recentemente, o efeito preventivo de outros tipos de fluoreto, tais como solução de tetrafluoreto de titânio a 4% (TiF_4), têm sido investigadas 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 TiF_4 4% comparando-o aos vernizes comerciais (NaF e NaF/CaF_2) e a uma solução de TiF_4 4%. Para isso, 72 espécimes de esmalte bovino foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: verniz de NaF (2,26% F), verniz de NaF/CaF_2 (5,63%), verniz de TiF_4 4%(2,45% F), verniz sem fluoreto (placebo), solução de TiF_4 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 à 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 ® (1min, 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 minutos em saliva humana e, posteriormente, tratadas com uma das soluções de fluoreto por 3 minutos: 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 (SnF2, 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.

Em estudo *in situ* Wiegand et al. (2010b) analisaram o impacto de diferentes tetrafluoretos (TiF4, ZrF4 e HfF4) e AmF sobre a erosão e erosão associada a abrasão em esmalte e dentina. Tanto os tetrafluoretos quanto o AmF foram capazes de reduzir a erosão e a erosão associada a abrasão *in situ*, apresentando praticamente a mesma eficácia.

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 natural (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 a formação de uma camada de fluoreto de cálcio (CaF_2) sobre o dente. Esta comporta-se 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, haverá a formação de fluorapatita, o que torna o esmalte menos solúvel para o próximo ataque ácido. 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).

2.3 - Laser

A possibilidade de se aumentar a resistência do esmalte dental à desmineralização após a irradiação por um laser foi demonstrada pela primeira vez em 1965 com um laser de rubi (STERN; SOGNNAES, 1965). 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 (CO_2), neodímio (Nd:YAG), érbio (Er:YAG) e argônio começaram a ser testados (WILDER-SMITH et al., 1997; YAMADA et al., 2004). O laser de CO_2, desenvolvido por Patel et al. (1964), é uma das mais conhecidas fontes de radiação eletromagnética na região infravermelha do

espectro de luz. Este, cujo comprimento de onda pode ser de 9,3µm, 9,6µm, 10,3µm ou 10,6µm, apresenta afinidade pelas bandas de fosfato da estrutura mineral, independendo da coloração do substrato (ESTEVES-OLIVEIRA, 2008). Para aplicações em Odontologia, os aparelhos de laser de CO_2 operam em um modo de não contato, contínuo ou pulsado (GONZALEZ et al.,1996).

Ainda em 1964, o primeiro laser de neodímio foi desenvolvido por Geusic, pode emitir no infravermelho em três principais comprimentos de onda diferentes: 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). Os lasers de CO_2 e 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 dental, 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 lasers de CO_2 e Nd:YAG (FEATHERSTONE et al.,1998; RODRIGUES et al., 2004)

Featherstone et al. (1998), examinaram a fluência e o comprimento de onda do laser CO_2 na prevenção da progressão da cárie em esmalte in vitro. Concluiram que o comprimento de onda de 9,3 e 9,6 µm, 25 pulsos, 1 a 3 J/cm^2 de fluências produziu elevação mínima da temperatura da subsuperfície (<1°C a 2mm de profundidade) e produziu inibição da progressão de cárie comparável com a inibição produzida pelo tratamento diário com dentifrício fluoretado. Tsai et al. (2002) testaram in vitro a eficácia do tratamento com laser CO_2 pulsado (1W, 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 lático

por 24 ou 72 h após o tratamento a laser. Depois de 24 horas a concentração de cálcio que se dissolveu no ácido lático no grupo tratado com laser CO_2 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 horas de desafio ácido, nenhum grupo irradiado com laser diferiu significativamente do grupo controle. Após avaliação por microscopia eletrônica de varredura, concluíram que o esmalte tratado com laser CO_2 foi mais resistente ao desafio ácido que o tratado com laser Nd:YAG, mas nenhum tipo de laser aumentou a resistência ácida do esmalte subsuperficial.

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 minutos, o laser Nd:YAG foi irradiado a 60 mJ/pulso (0,6 W, 10 Hz e 84,9 J/cm^2). Antes da aplicação do laser, os espécimes (grupo laser) receberam aplicação de corante a 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 ela 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. Observando-se esses princípios de interação da luz laser com o tecido, é possível inferir, para os lasers de CO_2, que para uma

mesma quantidade de energia e para um tempo de interação próximo ao tempo de relaxamento térmico do tecido, a irradiação com 9,6 µm causará o maior aumento de temperatura, porém nos 2 µm mais externos da superfície. Já a irradiação com 10,6 µm causará o menor aumento de temperatura, porém numa espessura de tecido um pouco maior (12 µm) (ESTEVES-OLIVEIRA, 2008).

Essa interação entre o laser e o tecido é extremamente dependente das propriedades ópticas do tecido. Por esse motivo entender a composição do mesmo é de grande importância para se encontrar os comprimentos de onda que podem provocar as interações desejadas para a prevenção de cárie e possivelmente da erosão. Sabe-se que o esmalte dental é composto em volume por 85% de mineral, 12% de água e 3% de matéria orgânica (DIBDIN, 1993; FRIED et al., 1997). A parte mineral é formada em grande parte por cristais de hidroxiapatita carbonatada organizados em prismas de aproximadamente 5 µm de diâmetro (LEGEROS, 1991). Devido a sua composição o esmalte apresenta uma alta absorção para comprimentos de onda na região do infravermelho entre 9 e 11 µm, emitidos pelos lasers de CO_2. Nessas regiões do espectro o espalhamento é negligível e a deposição de energia é determinada pelo coeficiente de absorção e pela reflexão (ZUERLEIN et al., 1999; EDUARDO; GOUW-SOARES; HAYPEK, 2002). As duas regiões do espectro mencionadas têm, teoricamente, o maior potencial para interagir com esmalte e dentina. Porém, os quatro principais comprimentos de onda emitidos pelo laser de CO_2 (9,3; 9,6; 10,3; 10,6 µm) apresentam um coeficiente de absorção maior no esmalte, o que torna a interação mais eficiente do ponto de vista energético. A absorção dos lasers de CO_2 pelo esmalte está relacionada à absorção pelas bandas de fosfato da porção mineral da estrutura. Entre os quatros comprimentos de onda principais, os dois mais curtos, 9,3 e 9,6 µm, apresentam a maior absorção e coincidem com a banda de absorção do fosfato. Para os mais compridos, 10,3 e 10,6 µm, a absorção é menor e também o grau de coincidência com a banda de fosfato (ZUERLEIN et al., 1999). Mesmo com numerosos estudos já realizados com os lasers de CO_2, ainda não existe uma definição clara sobre os prováveis parâmetros para uma aplicação clínica. Embora mais promissores, por terem maior interação com a hidroxiapatita do que os demais lasers de carbono, os lasers de CO_2 com comprimento de onda de 9,6 µm ainda não estão disponíveis comercialmente (TENUTA et al., 2010).

2.4 - Associação entre fluoreto e laser

Naylor et al. (2006) mostraram que após irradiação da dentina previamente erodida, com laser Nd:YAG (300 µm, 10 Hz, 0,6 W, 85 J/cm^2), houve obliteração completa da entrada dos túbulos dentinários, tornando a estrutura dentinária totalmente modificada. Lan et al. (2000) observaram que após a aplicação de diferentes potências dos lasers de CO_2 e Nd:YAG em substratos dentinários com e sem smear layer, o laser de Nd:YAG causou a formação de crateras e a fusão da superfície dentinária principalmente em substratos com smear layer, enquanto que o laser CO_2 produziu extensas rachaduras na superfície da dentina com smear layer e a formação de crateras nos espécimes sem smear layer. Estudos relataram que essas micro rachaduras 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 et al. (2007), investigaram o espectro de ação da irradiação laser associada à aplicação de fluoreto na proteção contra o amolecimento do esmalte dental 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 neutro 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 1064nm edensidade de energia 15J/cm^2) em uma área 5mm. Em seguida, foram expostos a um desafio erosivo (1M HCI) por cinco minutos. 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 dental submetido a um desafio erosivo.

Magalhães et al. (2008a), avaliaram in vitro o efeito de dois agentes fluoretados associados ou não a irradiação do laser Nd:YAG sobre a resistência da

dentina à erosão. Para tal, oitenta amostras de dentina bovina foram divididas em oito grupos, de acordo com os seguintes tratamentos: G1: sem tratamento (controle); G2: aplicação de gel de fluoreto fosfato acidulado (FFA 1,23%) por 4 min; G3: aplicação de verniz fluoretado (NaF 2,26%) por 6 h; G4: laser Nd:YAG com 0,5 W (250 µs de duração por pulso, 10 Hz, 35 J/cm^2, 30 s); G5: laser Nd:YAG com 0,75 W (52,5 J / cm^2); G6: laser Nd:YAG com 1,0 W (70 J/cm^2); G7: APF + laser Nd:YAG 0,75 W e G8: NaF + laser Nd:YAG com 0,75 W. Após os tratamentos, metade de cada superfície de dentina foi protegida com esmalte cosmético. As amostras foram armazenadas em saliva artificial (30 mL/amostra) por 24 horas e em seguida submetidas a quatro ciclos erosivos de 1 min (em Sprite Light ®). Entre os ataques erosivos, os blocos foram mantidos em saliva artificial por 59 min. Os autores concluiram que a irradiação do laser individualmente não foi capaz de reduzir a erosão em dentina. No entanto, a aplicação de fluoreto foi capaz de aumentar a resistência da dentina à erosão, sendo que o fluoreto fosfato acidulado associado ou não à irradiação laser apresentou melhores resultados do que o verniz fluoretado.

Em sua tese, Esteves-Oliveira (2008) teve como objetivo encontrar parâmetros de irradiação do laser de CO_2 (λ = 10,6 mm) que resultassem no máximo efeito preventivo de cárie e no menor dano térmico. Três estudos foram conduzidos para avaliar separadamente três parâmetros da irradiação com laser. No primeiro estudo cinco densidades de energia diferentes, 0,1, 0,3, 0,4, 0,5 e 0,6 J/cm^2 combinadas com altas taxas de repetição, 500, 154, 167, 182, 187 Hz, respectivamente, e 10 µs de duração de pulso foram testadas. Após ter sido avaliado, qual delas resultou na maior inibição da progressão das lesões de cárie, um segundo estudo foi conduzido com cinco diferentes larguras de pulso, 5, 10, 20, 30 e 50 µs, combinadas à mesma densidade de energia de 0,3 J/cm^2. Encontrada a duração de pulso que causou o melhor resultado, um terceiro estudo foi realizado avaliando três diferentes números de pulsos sobrepostos, para a mesma densidade de energia e duração de pulso (0,3 J/cm^2 e 5 µs). Para os três estudos foram utilizados cubos de esmalte bovino, que tiveram as suas superfícies polidas. Após o tratamento das superfícies com laser, as amostras foram submetidas ao mesmo desafio cariogênico, uma ciclagem de pH de 8 dias. A desmineralização provocada foi avaliada medindo-se a profundidade das lesões em microscópio de luz polarizada. Avaliações adicionais da desmineralização foram realizadas para os

estudos 2 e 3, utilizando-se a técnica de quantificação da fluorescência induzida por luz (QLF). Análises morfológicas da superfície e também da secção transversal foram realizadas com microscópio eletrônico de varredura. Diferentes grupos irradiados por laser apresentaram profundidades de lesão estatisticamente menores do que o controle e a maior inibição, que foi inclusive menor do que o grupo tratado com gel de fluoreto fosfato acidulado (1,23%), foi observada para a irradiação com 0,3 J/cm^2, 5 µs, 2036 pulsos sobrepostos. Morfologicamente, nenhum dos parâmetros testados causou danos térmicos na superfície. Pelos resultados observados, pode ser concluído que a irradiação por laser de CO_2 (λ= 10,6 mm) com 0,3 J/cm^2, 5 µs, 226 Hz e 2036 pulsos sobrepostos resulta em aumento da resistência do esmalte à desmineralização e não causa danos térmicos indesejados na superfície.

Com o objetivo de avaliar o sinergismo entre a irradiação laser e a aplicação de fluoreto na resistência dental á 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/cm^2, 30 s); G5: laser Nd:YAG com 0,75 W (52,5 J/cm^2); G6: laser Nd:YAG com 1,0 W (70 J/cm^2); 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 5ª 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 dental.

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, através de duas metodologias diferentes, a eficácia do laser pulsado de Nd:YAG associado a 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/cm^2) 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 mesio-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/cm^2), e G4: irradiação do laser de Nd:YAG + APF. As amostras foram então imersas em ácido cítrico (2% w/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 bovino quanto humano foi mais eficaz e produziu resultados estatisticamente significativos. Pôde-se então concluir que a associação do laser Nd:YAG à APF reduziu o desgaste do esmalte bovino e o amolecimento do esmalte dental humano quando as amostras foram submetidas a um regime de erosão e/ou abrasão in vitro.

Wiegand et al. (2010a), 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 (CO_2) combinado a aplicação de tetrafluoreto de titânio (TiF_4) 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 CO_2 apenas; G2: aplicação de TiF_4 apenas (1% F); G3: irradiação com laser CO_2 antes da aplicação de TiF_4; G4: irradiação com laser CO_2 durante aplicação de TiF_4; G5: aplicação de AmF (1% F); G6: irradiação com laser CO_2 antes da aplicação de

AmF; G7: irradiação com laser CO_2 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 submentidas 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 significativamente diferentes 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 CO_2 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 CO_2 não melhorou a sua eficácia. O TiF_4 apresentaram apenas uma capacidade limitada para evitar a erosão, mas a irradiação do laser de CO_2 aumentou significativamente a sua capacidade de reduzir a erosão do esmalte.

Steiner-Oliveira et al. (2010), combinaram a ação entre o laser CO_2 (λ = 10,6 µm) 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 planificados, polidos e distribuídos aleatoriamente nos seguintes tratamentos (n = 8), fluoreto (F), laser (L), fluoreto + laser (FL) ou nenhum tratamento (C). As amostras foram submetidas à 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 CO_2 pulsado (λ = 10,6 µm) 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 CO_2 *in situ*. Para isso, 10 voluntários participaram do estudo cruzado com quatro tratamentos (G1 - controle, sem tratamento; G2 - irradiação com laser de CO_2; 0,3 J/cm^2 - 5 µs - 226 Hz; G3 - tratamento tópico com fluoreto - 1,25% - 3 min; G4 - laser de CO_2 + 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 minutos, 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 em vez 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 CO_2 com 0,3 J/cm^2 (5 µs, 226 Hz), associada ou não a 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.

Diante do exposto nota-se a necessidade de mais estudos em relação a utilização do laser, com a avaliação do efeito de diferentes densidades de energia em relação à erosão. Somado a isso, a associação do laser ao fluoreto deve ser melhor investigada.

3 Proposição

3 - PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar *in vitro* o efeito de diferentes densidades de energia da irradiação dos lasers de CO_2 e Nd:YAG sobre o esmalte e dentina quando submetidos a erosão (fase 1) e depois avaliar o efeito do melhor parâmetro associado ao fluoreto na diminuição da erosão dentária, quando aplicados sobre esmalte e dentina hígidos e previamente erodidos (fase 2). Além disso, será avaliado o efeito do recobrimento da estrutura dentária com corante foto absorvente no desempenho do laser Nd:YAG. As hipóteses nulas formuladas foram:

- Os diversos parâmetros testados para o laser CO_2 apresentam o mesmo efeito sobre os substratos dentários diante de um desafio erosivo *in vitro*;
- Os diversos parâmetros testados para o laser Nd:YAG apresentam o mesmo efeito sobre os substratos dentários diante de um desafio erosivo *in vitro*;
- O recobrimento das estruturas dentárias com pigmento (corante foto absorvente) previamente a irradiação laser não interfere no efeito do laser Nd:YAG, diante de um desafio erosivo *in vitro*;
- A estrutura dentária hígida apresenta o mesmo comportamento da estrutura dentária previamente erodida quando irradiadas com laser e submetidas a subseqüente desafio erosivo *in vitro*;
- A irradiação laser (Nd:YAG e CO_2) e/ou aplicação de fluoreto de amina nas estruturas dentárias–não apresentam efeito sobre os substratos dentários diante de um desafio erosivo *in vitro*.

4 Material e Métodos

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Delineamento experimental

Este protocolo in vitro foi realizado em duas fases, sendo que a primeira avaliou os parâmetros de dois tipos de laser (CO_2 e Nd:YAG), considerando apenas um fator, para o laser CO_2, o parâmetro do laser (em cinco níveis: controle, sem tratamento e quatro diferentes potências para cada tipo de substrato) e para o laser Nd:YAG foi considerado o parâmetro do laser, com e sem corante (em nove níveis: controle/sem tratamento e quatro diferentes potências com ou sem corante). A segunda fase, de posse dos resultados obtidos na primeira fase, associou ou não a irradiação do laser com a aplicação de flúor na presença ou ausência de erosão prévia dos blocos, desta forma considerou-se dois fatores: tratamento (em quatro níveis: controle, laser, laser associado ao flúor e flúor) e presença de erosão prévia (em dois níveis: com ou sem), para cada tipo de laser separadamente (CO_2 ou Nd:YAG). Um total de 130 blocos de esmalte bovino e 130 blocos de dentina bovina compuseram a primeira etapa e 120 blocos de esmalte bovino e 120 blocos de dentina bovina fizeram parte da segunda fase sendo igualmente e aleatoriamente divididos nos seguintes grupos:

1ª Fase (n=10, para cada tipo de substrato dentário: esmalte e dentina)**:**

Nd:YAG

C- sem tratamento (controle, o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

Nd1- irradiação com laser Nd:YAG (42,45 J/cm^2);

Nd2- irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm^2);

Nd3- irradiação com laser Nd:YAG (84,9 J/cm^2);

Nd4- irradiação com laser Nd:YAG (99,05 J/cm^2);

Nd5- aplicação de corante a base de carvão e posterior irradiação com laser Nd:YAG (42,45 J/cm^2);

Nd6- aplicação de corante a base de carvão e posterior irradiação com laser Nd:YAG (56,6 J/cm^2);

Nd7- aplicação de corante a base de carvão e posterior irradiação com laser Nd:YAG (84,9 J/cm^2);

Nd8- aplicação de corante a base de carvão e posterior irradiação com laser Nd:YAG (99,05 J/cm^2).

Nos blocos irradiados com Nd:YAG foram utilizados os mesmos parâmetros para o esmalte e dentina, sendo que nos grupos Nd1 ao Nd5 não foi aplicado corante e nos grupos Nd6 ao Nd8 foi aplicado. Em contrapartida nos blocos irradiados com laser CO_2, o esmalte foi exposto ao dobro da densidade de energia utilizada na dentina.

CO_2

C - sem tratamento (controle, o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

CO1 - irradiação com laser CO_2 (Esmalte: 7,2 J/cm^2), (Dentina: 3,6 J/cm^2);

CO2 - irradiação com laser CO_2 (Esmalte: 14,4 J/cm^2), (Dentina: 7,2 J/cm^2);

CO3 - irradiação com laser CO_2 (Esmalte: 21,4 J/cm^2), (Dentina: 10,7 J/cm^2);

CO4 - irradiação com laser CO_2 (Esmalte: 28,8 J/cm^2), (Dentina: 14,4 J/cm^2).

2ª Fase (n=10 para cada tipo de substrato dentário: esmalte e dentina)**:**

Nd:YAG

C - controle sem erosão prévia (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

C+EP - controle com erosão prévia (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

Nd:YAG - irradiação com laser Nd:YAG (esmalte: 56,6 J/cm^2 e dentina: 42,45 J/cm^2), (tais densidades de energia foram aplicadas em todos os grupos irradiados com Nd:YAG);

EP+Nd:YAG - erosão prévia seguida da irradiação com laser Nd:YAG;

F - aplicação de AmF (1% F) (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2).

EP+F - erosão prévia e posterior aplicação de AmF (1% F) (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

Nd:YAG+F - irradiação com laser Nd:YAG e posterior aplicação de AmF (1% F);

EP+Nd:YAG+F - erosão prévia seguida da irradiação com laser Nd:YAG e posterior aplicação de AmF (1% F);

CO_2

C+EP - controle com erosão prévia (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

C - controle sem erosão prévia (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

CO_2 - irradiação com laser CO_2 (esmalte: 28,6 J/cm^2 e dentina: 10,7 J/cm^2), (tais densidades de energia foram aplicadas em todos os grupos irradiados com CO_2);

EP+CO_2 - erosão prévia seguida da irradiação com laser CO_2;

F - aplicação de AmF (1% F) (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2).

EP+F - erosão prévia e posterior aplicação de AmF (1% F) (o mesmo grupo foi utilizado para comparação com os grupos irradiados com Nd:YAG e CO_2);

CO_2+F - irradiação com laser CO_2 e posterior aplicação de AmF (1% F).

EP+CO_2+F - erosão prévia seguida da irradiação com laser CO_2 e posterior aplicação de AmF (1% F);

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, na 1ª e 2ª fase os blocos foram submetidos à ciclagem erosiva, composta por 4 imersões diárias em bebida ácida por 2 min seguida pela imersão em saliva artificial por 2 h, durante 5 dias. Os blocos de esmalte e dentina foram

avaliados por meio da perfilometria após o tratamento (irradiação laser/aplicação fluoreto) e depois do 1º e 5º dia de ciclagem erosiva

4.2 - Obtenção dos dentes e preparo dos blocos de esmalte e dentina

Aproximadamente 350 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, foram utilizados no presente estudo. Os dentes passaram por uma seleção prévia, buscando-se selecionar os melhores, eliminando aqueles com trincas, rachaduras, ou espessura de dentina muito delgada. Os incisivos foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e posteriormente esterilizados em solução de formol a 2% (pH 7,0), preparada com tampão fosfato, na qual ficaram imersos por no mínimo 30 dias.

Primeiramente as raízes foram separadas de suas coroas, 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) e um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ), sendo feita uma secção na porção cervical dos dentes.

Em seguida, para obtenção dos blocos de esmalte as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corporation, made in U.S.A.) em uma pequena placa de acrílico (40 x 40 x 5 mm^3). A placa de acrílico foi parafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw , Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) e com o auxílio de dois discos diamantados dupla face (XL 12205, "*High concentration*", 102 x 0,3 x 12,7 mm^3 Extec Corp., Enfield, CT, USA/ Ref: 12205) 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, refrigerado com água deionizada, foram obtidos os blocos de esmalte de 4 x 4 mm^2 da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal (Figura 1).

Para obtenção dos blocos de dentina as raízes foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corporation, made in USA) no canto inferior direito da placa de acrílico cristal para facilitar a adaptação na máquina de corte. A placa de acrílico foi acoplada no aparelho de corte de precisão com velocidade de 300 rpm,

refrigerado com água deionizada e com o auxílio dos dois discos diamantados dupla face separados pelo espaçador (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) foram obtidas rodelas de raiz. Em seguida um novo corte no sentido perpendicular ao primeiro foi realizado da mesma forma. Um conjunto de três fragmentos foi fixado com godiva termoativada no centro da placa de acrílico cristal e com apenas um dos discos diamantados dupla face foi realizado um corte ao meio dos fragmentos resultando em 2 blocos de dentina de 4 X 4 mm^2 (Figura 2). Por fim, os blocos foram submetidos a uma planificação. Para tal, estes foram fixados com cera pegajosa *Kota* com o auxílio de um instrumento de PKT (Duflex Ind. Bras.) e uma lamparina (JON, Ind. Bras.) no centro de um disco de acrílico (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), no caso do esmalte com a face de esmalte voltada para o disco, com o intuito de realizar primeiramente a planificação da dentina; e na dentina com a superfície de dentina externa (cemento) voltada para baixo. A dentina (dos fragmentos de esmalte e dentina) foi planificada em uma politriz metalográfica com um sistema múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova (APL 4, Arotec, Cotia, SP) com o uso de uma lixa de carbeto de silício de granulação 320 (Extec. Corp.), em baixa velocidade, durante período variando de 15 segundos até vários minutos, dependendo da espessura do bloco e do grau de utilização da lixa.

Em seguida, os blocos foram retirados da placa e limpos com xilol (Pharmácia Específica manipulação de fórmulas, Bauru - SP), para remover resíduos de cera. Os blocos novamente foram fixados, mas com a superfície de esmalte exposta (para cima), no caso dos blocos de esmalte e da dentina externa exposta, no caso dos blocos de dentina. Foram utilizadas lixas de carbeto de silício de granulação 600 e 1200 (Extec. Corp.) em alta velocidade até a superfície apresentar-se plana e com aspecto vítreo, durante 2 a 3 minutos. 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), durante 5 minutos, com água deionizada (200 mL), a fim de impedir interferência dos grãos na lisura do tecido.

Para o polimento final, foi utilizado um pano de feltro (Extec. Corp.) umedecido em solução de diamante de 1µm (Buehler), durante 3 minutos. Após o último polimento, os blocos retornaram ao ultra-som, durante 10 minutos. Ao final os blocos se apresentaram planos e com aspecto vítreo.

Figura 1 - Bloco de esmalte obtido de coroa dental bovina.

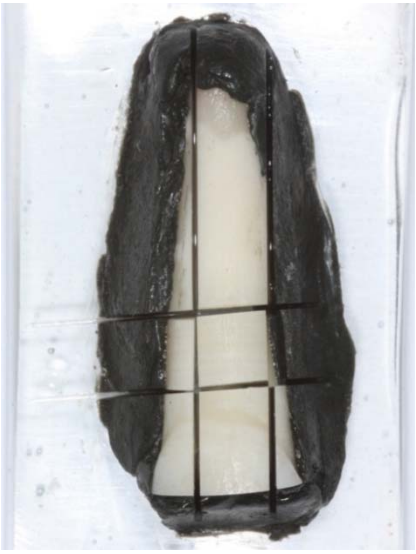


Figura 2 - Bloco de dentina obtido de raiz dental bovina.

4.3 - Avaliação da Microdureza Superficial Inicial

A microdureza superficial inicial dos blocos de esmalte e dentina foi avaliada utilizando-se um microdurômetro (Microdurômetro Shimadzu) acoplado a um microcomputador e um software específico (ponta Knoop, carga 25g/5s para o esmalte e 15g/10s para a dentina) (Figura 3). Em cada corpo de prova foram realizadas 4 edentações 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, sendo selecionados 600 deles (de cada substrato dentário). Os 130 blocos de esmalte selecionados para a primeira fase apresentavam dureza entre 310 e 380 KNH (364,68 ± 26,04 KNH) e os 130 blocos de dentina apresentavam dureza entre 10,1 e 67,3 (38,5 ± 13,49 KNH). Os 120 blocos de esmalte da segunda fase apresentavam dureza entre 310 e 390 (363,78 ± 33,80 KNH) e os 120 blocos da dentina apresentavam entre dureza entre 9,3 e 69,6 (38,2 ± 9,80 KNH). Na seqüência foram aleatoriamente alocados entre os 13 grupos da primeira fase e os 12 grupos da segunda fase.

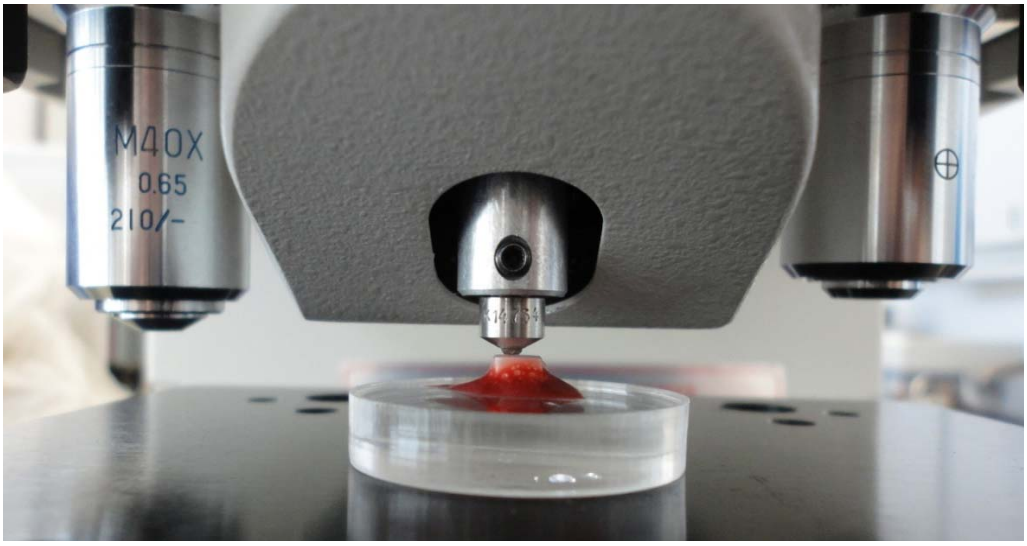


Figura 3 - Realização da endentação inicial dos blocos em microdurômetro com ponta Knoop.

4.4 - Fase 1: Seleção da densidade de energia dos lasers

4.4.1 - Tratamento dos blocos

Antes da irradiação do laser, dois terços da superfície dos blocos foi coberta com esmalte de unha cosmético, para permitir uma superfície de referência para as aferições de desgaste (Figuras 4a-c).

Os grupos Nd1 a Nd8 foram irradiados com laser Nd:YAG (Power Laser ST6 – Pulsed free running Nd:YAG laser) (Figura 5) com diferentes energias. Boari et al. (2009) e Zezell et al. (2009) utilizaram o laser Nd:YAG irradiado com 84,9 J/cm^2 e comprovaram que este parâmetro é seguro em relação a vitalidade pulpar e já o utilizaram em estudo clínico. Desta forma, este parâmetro foi utilizado sendo testados 2 parâmetros menores e 1 maior.

Nos grupos Nd1 e Nd5 as condições de irradiação foram 50 mJ/pulso e 10 Hz (42,45 J/cm^2), nos grupos Nd2 e Nd6 foram 60 mJ/pulso e 10 Hz (56,6 J/cm^2), nos grupos Nd3 e Nd7 foram 70 mJ/pulso e 10 Hz (84,9 J/cm^2) e grupos Nd4 e Nd8 foram 80 mJ/pulso e 10 Hz (99,05 J/cm^2).

A irradiação foi realizada com laser Nd:YAG com comprimento de onda de 1064nm, 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 diversas densidades de energia. 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 Nd5 a Nd8 foi feita aplicação de corante a base de carvão (coal paste), composto de carvão (carvão vegetal - *carbo activatus*, 250mg; Erbarium Laboratório Botânico Ltda) triturado em moinho de porcelana por 10 minutos, 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) 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 pra remoção do corante a base de carvão.

O laser de CO_2 (UM-L30, Union Medical Engineering Co., Seoul, Korea) (Figura 6) foi utilizado com energia de 28,6 J/cm^2 já comprovada na literatura de ser capaz de inibir a desmineralização por cárie (HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002) e foram testados somente parâmetros menores, sendo alguns destes diferentes para o esmalte e dentina. A irradiação laser foi realizada com um laser de CO_2 com 10,6 µm de comprimento de onda, 5 µs de duração de pulso e 50 Hz de freqüência. A superfície exposta das amostras (livre de esmalte cosmético) foi irradiada durante 13 s por um dentista calibrado movendo a ponta da sonda laser continuamente a uma distância padronizada de 10 mm da superfície da amostra para garantir uma área de irradiação de 0,3 mm. Os blocos de esmalte foram irradiados com as seguintes potências: CO1 foi irradiado com 0,5 W (7,2 J/cm^2), CO2 com 1,0 W (14,4 J/cm^2), CO3 com 1,5 W (21,4 J/cm^2) e CO4 com 2 W (28,8 J/cm^2). Já os blocos de dentina foram irradiados com as seguintes potências: CO1 foi irradiado com 0,25 W (3,6 J/cm^2), CO2 com 0,5 W (7,2 J/cm^2), CO3 com 0,75 W (10,7 J/cm^2) e CO4 com 1,0 W (14,4 J/cm^2).

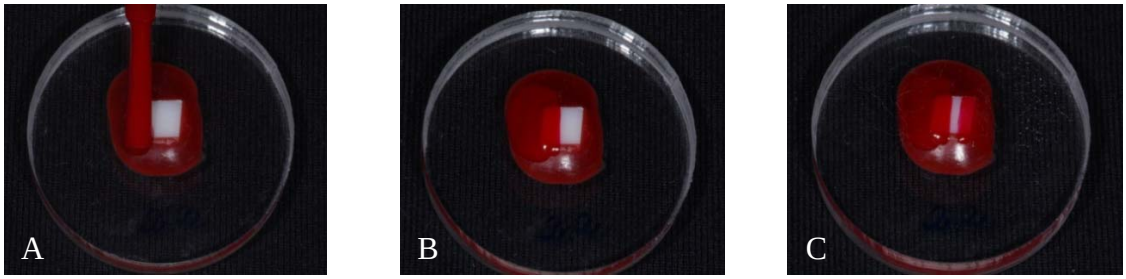


Figura 4 (4A, 4B,4C) - Sequência de proteção dos blocos com esmalte de unha cosmético.

Figura 5 - Aparelho do laser de Nd:YAG.

Figura 6 - Aparelho do de laser CO_2.

4.4.2 - Perfil Inicial

Após os tratamentos, o esmalte cosmético foi cuidadosamente removido somente de um dos lados do bloco, evitando que nas leituras subseqüentes houvesse um posicionamento incorreto deste no momento da re pintura. Após a remoção do esmalte cosmético foi realizado o perfil inicial dos blocos com a utilização de um perfilometro de contato (Hommel Tester T1000, VS, Schwenningen, Germany). Na superfície que não sofreu o experimento (superfície posteriormente coberta com esmalte de unha) foi feita uma pequena marcação de referência com uma lâmina de bisturi no canto direito. Esta marcação foi utilizada como o início do primeiro perfil. A ponta de diamante se deslocou da superfície hígida para a superfície exposta ao tratamento (comprimento de 1,5 mm). O

desgaste correspondeu a distância vertical (em altura) entre a superfície de referência e o vale de desgaste (Hommel Tester Software). A seguir foram feitos outros três perfis com uma distância de 250 µm entre eles. A média das quatro medições foi utilizada para a obtenção do valor de desgaste. Após a realização do perfil inicial o esmalte cosmético foi reaplicado.

A reprodutibilidade das medidas iniciais e finais (dez corridas de uma amostra) foi de ± 0,05 e ± 0,1 µm, respectivamente. A análise da repetição de um traço apresentou um desvio padrão de ± 0,02 µm.

4.5 - Protocolo do estudo in vitro

4.5.1 - Ciclagem Erosiva

Os blocos foram submetidos à ciclagem de pH 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 ®; Industria brasileira), em um volume de 17,6 mL por amostra, durante 2 minutos, 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 7);
- Lavagem em água deionizada (20s);
- Remineralização em 17,6 mL de saliva artificial por amostra, durante 2 horas, sob temperatura ambiente em outro recipiente de plástico. A composição da saliva artificial foi: KH_2PO_4 2,4mM, Na_2HPO_4 2,4mM, KCl 17mM, NaSCN 2mM, NaCl 9,9nmM, $CaCl_2$ 1,5mM, NH_4Cl 3mM, urea 3,3mM, glicose 0,2mM e uma pitada de ácido ascórbico (KLIMEK et al., 1982) (Figura 8).
- Lavagem em água deionizada (20s);

Ao final de cada dia de ciclagem, os blocos foram imersos em saliva artificial, *overnight* (14 horas), sob temperatura de 37ºC (RIOS et al., 2009).

Figura 7 - Desmineralização dos blocos por refrigerante ácido.

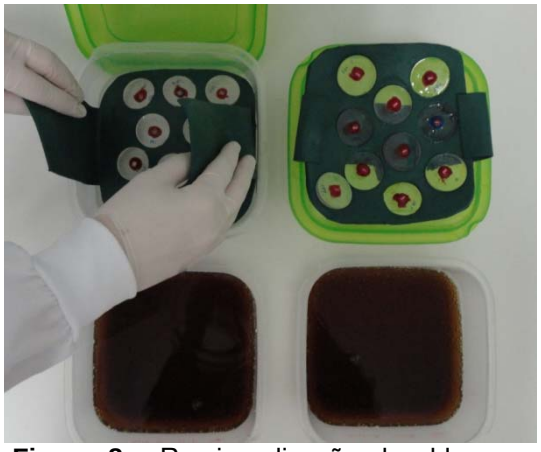


Figura 8 - Remineralização dos blocos em saliva artificial.

4.5.2 - Avaliação do desgaste - perfil no 1º e 5º dia

No 1º e 5º dia foi avaliado o desgaste da superfície dos blocos. No 1º dia o esmalte cosmético foi removido do mesmo lado da medição do desgaste provocado pelo tratamento e o perfil foi mensurado como descrito anteriormente (item *4.4.2*). A seguir o esmalte cosmético foi reaplicado na marcação prévia. No entanto, no 5º dia o esmalte dos dois lados foi removido e o desgaste foi avaliado dos dois lados. De forma geral, as medições foram semelhantes, entretanto quando houve diferença entre elas, foi considerado o perfil do lado que não havia sido removido nas duas medições anteriores.

4.6 - Análise estatística

Para fins didáticos, devido a grande quantidade de análises realizadas, estas serão expressas em forma de tabela.

Tabela 1 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **Nd:YAG**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA	K. Wallis	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	_	_	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	_	NÃO
5ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	_	SIM
1ª ERO	NÃO	_	_	SIM	SIM
5ª ERO	NÃO	_	_	SIM	NÃO

* ERO cum = erosão cumulativa

Tabela 2 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **Nd:YAG**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA	K. Wallis	Tukey
Pós-tratamento	SIM	NÃO	_	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	_	SIM	_	SIM
5ª ERO cum*	NÃO	_	_	SIM	NÃO
1ª ERO	SIM	_	SIM	_	SIM
5ª ERO	NÃO	_	NÃO	SIM	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa

Tabela 3 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **CO_2**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA	K. Wallis	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	_	_	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	_	SIM
5ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	_	SIM
1ª ERO	SIM	SIM	SIM	_	SIM
5ª ERO	SIM	SIM	SIM	_	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa

Tabela 4 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da primeira fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de CO_2.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA	K. Wallis	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	_	_	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	_	SIM
5ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	_	NÃO
1ª ERO	NÃO	_	_	SIM	SIM
5ª ERO	SIM	SIM	SIM	_	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa

4.7 - Fase 2: Utilização da melhor potência, associada ou não à aplicação de fluoreto, na ausência ou presença de erosão prévia

4.7.1 - Formação de lesões artificiais de erosão

Metade dos blocos de esmalte e dentina (n=120) após a aleatorização foram submetidos a formação de lesões artificiais de erosão. A erosão foi realizada *in vitro* pela imersão dos blocos em refrigerante ácido (pH 2,6, 0,32 ppm F, Coca-Cola ®; Industria brasileira) em um volume de 17,6 mL por amostra, por no máximo 6 minutos. Em estudo piloto este protocolo provocou erosão com amolecimento da superfície, sem desgaste detectável (dentina média de dureza final = 17,19 KHN, esmalte média final = 211,67 KHN).

4.7.2 - Tratamento dos blocos

Antes da irradiação do laser, dois terços da superfície dos blocos foi coberta com esmalte de unha cosmético, para permitir uma superfície de referência para as aferições de desgaste.

Os grupos C+EP e C foram denominados controles, tanto para os blocos de esmalte quanto para os de dentina. Os blocos de esmalte e dentina pertencentes aos grupos EP+F e F receberam somente tratamento com flúor, sendo que a utilização deste funcionou como um controle positivo de modo que permitisse comparações entre o efeito do laser e o efeito do flúor. Para tal

tratamento, o fluoreto de amina (AmF – 1% F, pH 4,5, Elmex fluid, GABA, Münchenstein, Switzerland) foi utilizado. Vinte e cinco microlitros desta solução foram pipetados sobre a superfície do bloco e deixados em repouso por 60 s. A solução foi aplicada imediatamente após a irradiação do laser.

Os blocos de esmalte dos grupos EP+Nd:YAG, EP+Nd:YAG+F, Nd:YAG, e Nd:YAG+F receberam, previamente a irradiação do laser Nd:YAG, aplicação de corante a base de carvão (coal paste), composto de carvão triturado em moinho de porcelana por 10 minutos, resultando em partículas de 10 µm de diâmetro, diluídos em partes iguais de água deionizada e 99% de etanol. A pasta foi aplicada como na primeira fase do estudo. Os parâmetros utilizados para a aplicação do laser Nd:YAG, foram obtidos do melhor resultado da primeira fase do estudo. Sendo assim, as condições de irradiação para os grupos de esmalte foram 60 mJ/pulso e 10 Hz (56,6 J/cm^2), realizadas com laser Nd:YAG, com comprimento de onda de 1064nm, perpendicularmente à amostra com uma fibra óptica (320 µm de diâmetro) em modo de contato, 250 µs duração do pulso, 10 Hz de frequência. 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. Já os grupos EP+Nd:YAG, EP+Nd:YAG+F, Nd:YAG, e Nd:YAG+F pertencentes a dentina receberam diretamente a irradiação do laser Nd:YAG, não tendo sido aplicado o corante a base de carvão. As condições de irradiação para esses grupos de dentina foram 50 mJ/pulse e 10 Hz de frequência (42,45 J/cm^2), com demais condições de irradiação previamente citadas.

A irradiação do laser foi associada à aplicação de flúor nos grupos EP+Nd:YAG+F e Nd:YAG+F tanto nos blocos de esmalte quanto nos de dentina. Como citado, vinte e cinco microlitros da solução de fluoreto de amina foram pipetados sobre a superfície do bloco e deixados em repouso por 60 s. A solução foi aplicada imediatamente após a irradiação do laser. Depois do tratamento, o excesso do fluoreto foi removido cuidadosamente com papel absorvente.

4.7.3 - Tratamento com laser CO_2 e fluoreto

Antes da irradiação do laser, dois terços da superfície dos blocos foi coberta com esmalte de unha cosmético, para permitir uma superfície de referência para as aferições de desgaste.

Assim como para o laser de Nd:YAG, os parâmetros utilizados para a aplicação do laser CO_2 foram obtidos do melhor resultado da primeira fase do estudo. Sendo assim, a condição de irradiação para os grupos de esmalte foi 2 W (28,8 J/cm^2) e para os grupos de dentina foi 0,75 W (10,7 J/cm^2), realizada com laser CO_2 (UM-L30, Union Medical Engineering Co., Seoul, Korea) com 10,6 µm de comprimento de onda, 0,05 µs de duração de pulso 50 Hz de freqüência. A superfície exposta das amostras (livre de esmalte cosmético) foi irradiada durante 13 s por um dentista calibrado movendo a ponta da sonda laser continuamente a uma distância padronizada de 10 mm da superfície da amostra para garantir uma área de irradiação de 0,3 mm. A irradiação do laser foi associada à aplicação de flúor nos grupos EP+CO_2+F e CO_2+F tanto nos blocos de esmalte quanto nos de dentina. Como citado, vinte e cinco microlitros da solução de fluoreto de amina foram gotejados sobre a superfície do bloco e deixados em repouso por 60 s. A solução foi aplicada imediatamente após a irradiação do laser.

4.7.4 - Perfil Inicial

Após os tratamentos e após a remoção do esmalte cosmético foi realizado o perfil inicial dos blocos com a utilização de um rugosímetro (Mahr Perthometer, Göttingen, Germany), assim como descrito no item *4.4.2*.

4.8 - Protocolo do estudo in vitro

Ciclagem Erosiva

Os blocos foram submetidos à ciclagem de pH durante 5 dias como descrito no item *4.5.1*.

4.8.1 - Avaliação do desgaste – perfil final

No 1º e 5º dia foi avaliado o desgaste da superfície de esmalte dos blocos da mesma maneira como descrito no item *4.4.2*.

4.9 - Análise estatística

Para fins didáticos, devido à grande quantidade de análises realizadas, estas serão expressas em forma de tabela.

Tabela 5 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **Nd:YAG**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA**	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	NÃO	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	SIM
5ª ERO cum*	NÃO	NÃO	SIM	SIM
1ª ERO	SIM	SIM	SIM	SIM
5ª ERO	NÃO	NÃO	SIM	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa/**ANOVA a dois critérios

Tabela 6 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **Nd:YAG**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA**	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	NÃO	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	SIM
5ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	SIM
1ª ERO	SIM	SIM	SIM	SIM
5ª ERO	SIM	SIM	SIM	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa/**ANOVA a dois critérios

Tabela 7 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando o **esmalte** irradiado com o laser de **CO_2**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA**	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	NÃO	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	SIM
5ª ERO cum*	NÃO	SIM	SIM	SIM
1ª ERO	SIM	SIM	SIM	SIM
5ª ERO	NÃO	SIM	SIM	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa/**ANOVA a dois critérios

Tabela 8 - Análise estatística dos dados obtidos a partir da segunda fase, considerando a **dentina** irradiada com o laser de **CO_2**.

Procedimento	Normalidade	Homogeneidade	ANOVA**	Tukey
Pós-tratamento	NÃO	NÃO	SIM	SIM
1ª ERO cum*	SIM	NÃO	SIM	SIM
5ª ERO cum*	SIM	SIM	SIM	SIM
1ª ERO	SIM	NÃO	SIM	SIM
5ª ERO	SIM	SIM	SIM	SIM

* ERO cum = erosão cumulativa/**ANOVA a dois critérios

5 Resultados

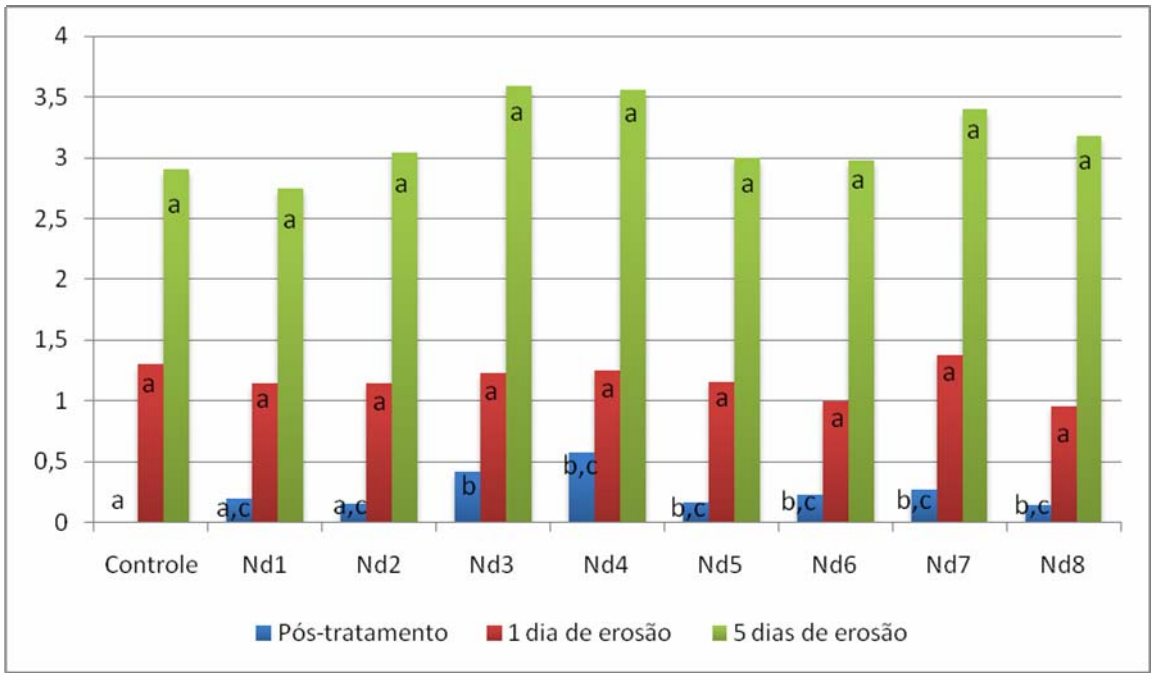
5 - RESULTADOS

5.1 - Primeira fase

5.1.1 - Resultados do laser de Nd:YAG

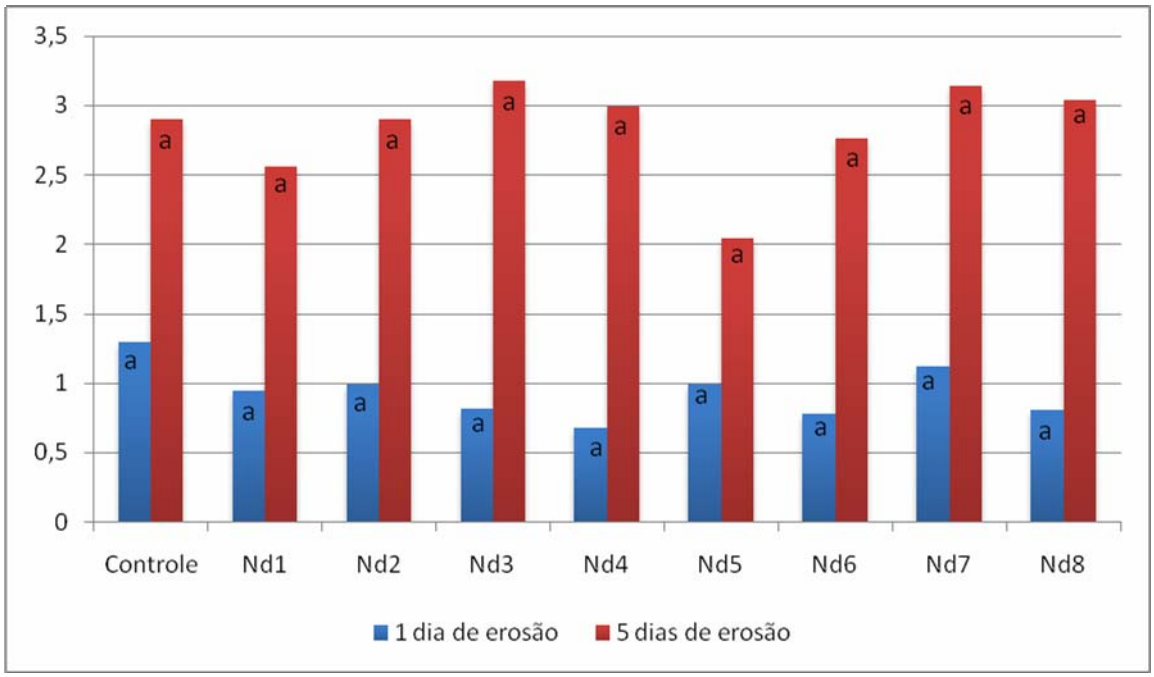
5.1.1.1 - Esmalte

As figuras 9 e 10 representam os resultados da primeira fase realizada em esmalte com a utilização do laser Nd:YAG. No pós tratamento foi observada diferença estatisticamente significante (Figura 9; Apêndice A). Os blocos de esmalte tratados com corante e posterior aplicação de laser apresentaram maior alteração da superfície em relação ao controle (grupos Nd5-8), entretanto quando os blocos não foram tratados com aplicação prévia de corante apenas os grupos Nd3 e Nd4 apresentaram alteração diferente do grupo controle. O desgaste cumulativo após o primeiro e quinto dia não resultou em diferença estatística entre os grupos (Figura 9; Apêndice A). O mesmo resultado, ausência de diferença entre os grupos, foi observado para o desgaste provocado apenas pela ciclagem erosiva (diferença) após o primeiro e quinto dia de ciclagem (Figura 10; Apêndice A).



* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa (p<0,05).

Figura 9 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **Nd:YAG**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste cumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).



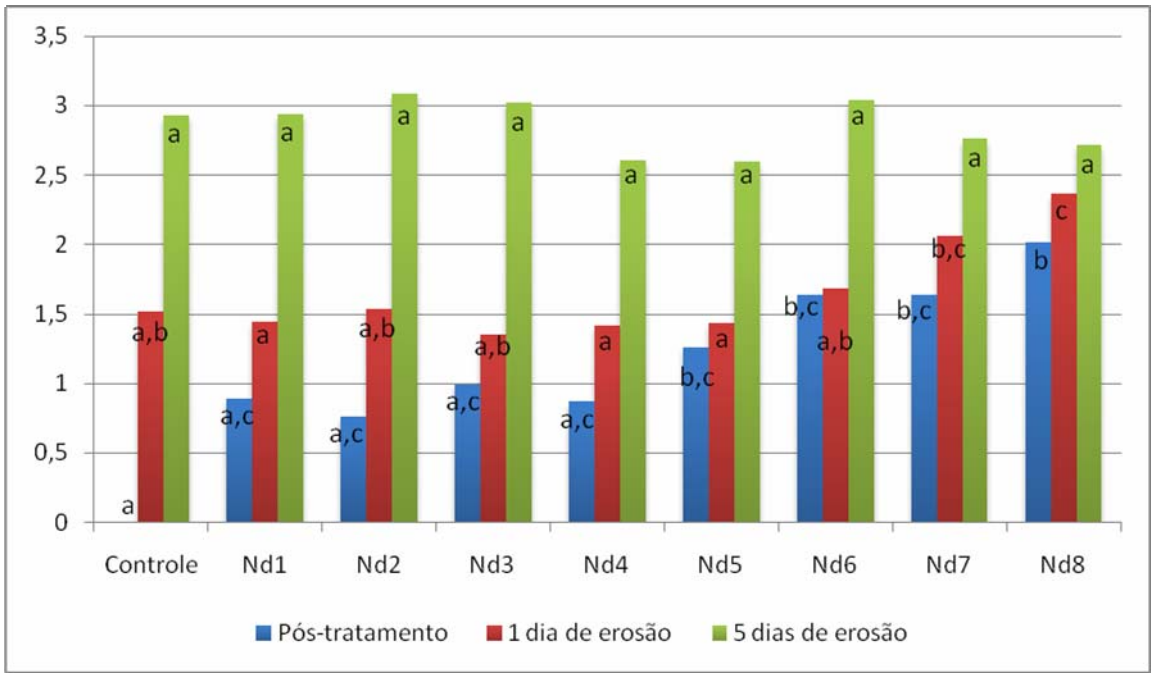
* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa (p<0,05).

Figura 10 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **Nd:YAG** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem).

5.1.1.2 - Dentina

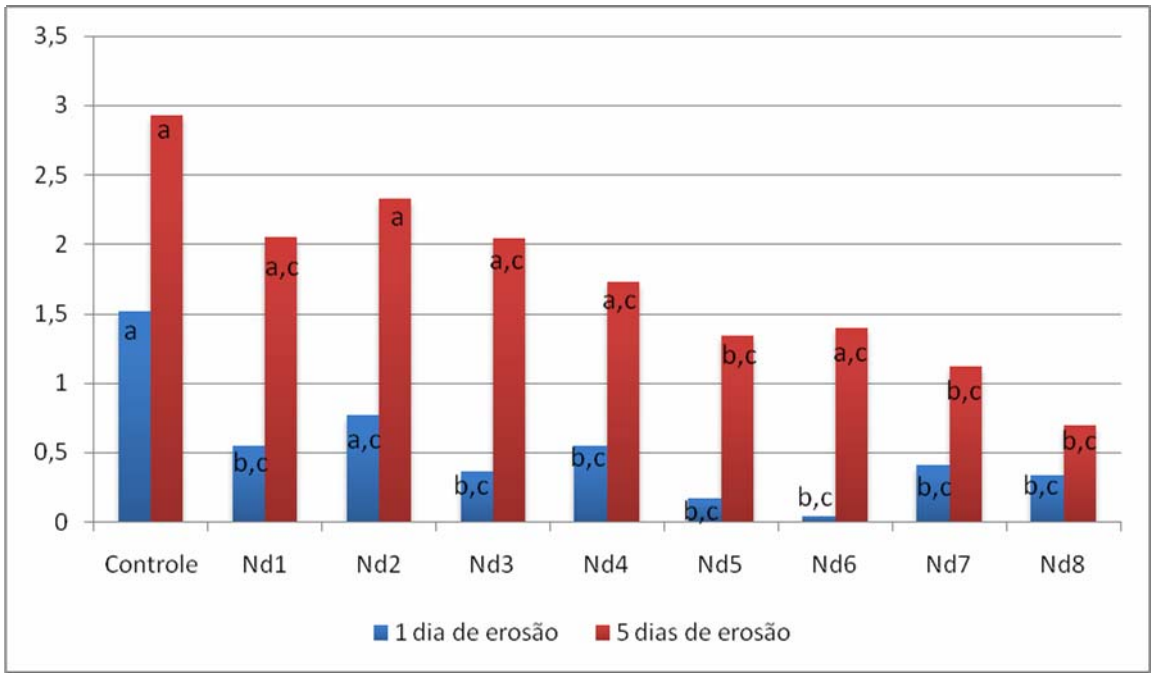
As figuras 11 e 12 representam os resultados da primeira fase realizada em dentina com a utilização do laser Nd:YAG. No pós tratamento foi observada diferença estatisticamente significante entre os grupos (Figura 11; Apêndice A). Assim como em esmalte, os blocos de dentina tratados com corante e posterior aplicação de laser apresentaram maior alteração da superfície (grupos Nd5-8) em relação ao controle. Apenas o grupo 8 apresentou diferença significativa em relação aos grupos sem corante (Nd1-4). Entretanto, após o primeiro dia de ciclagem erosiva, apenas o grupo Nd8 apresentou desgaste maior em relação aos demais grupos, inclusive o controle. Após o quinto dia de experimento o desgaste cumulativo não resultou em diferença entre os grupos (Figura 11; Apêndice A).

Quanto ao desgaste provocado apenas pela ciclagem erosiva (diferença), após o primeiro dia de ciclagem, todos os grupos apresentaram diferença em relação ao controle, com exceção do grupo Nd2 (Figura 12; Apêndice A). Já com relação ao quinto dia de ciclagem, a maioria dos grupos que foi submetido à aplicação prévia de corante (Nd5, Nd7 e Nd8) diferiu estatisticamente do grupo controle, no entanto não houve diferença entre os grupos irradiados com exceção do grupo Nd8 com Nd2 (Figura 12; Apêndice A).



* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa (p<0,05).

Figura 11 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **Nd:YAG**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).



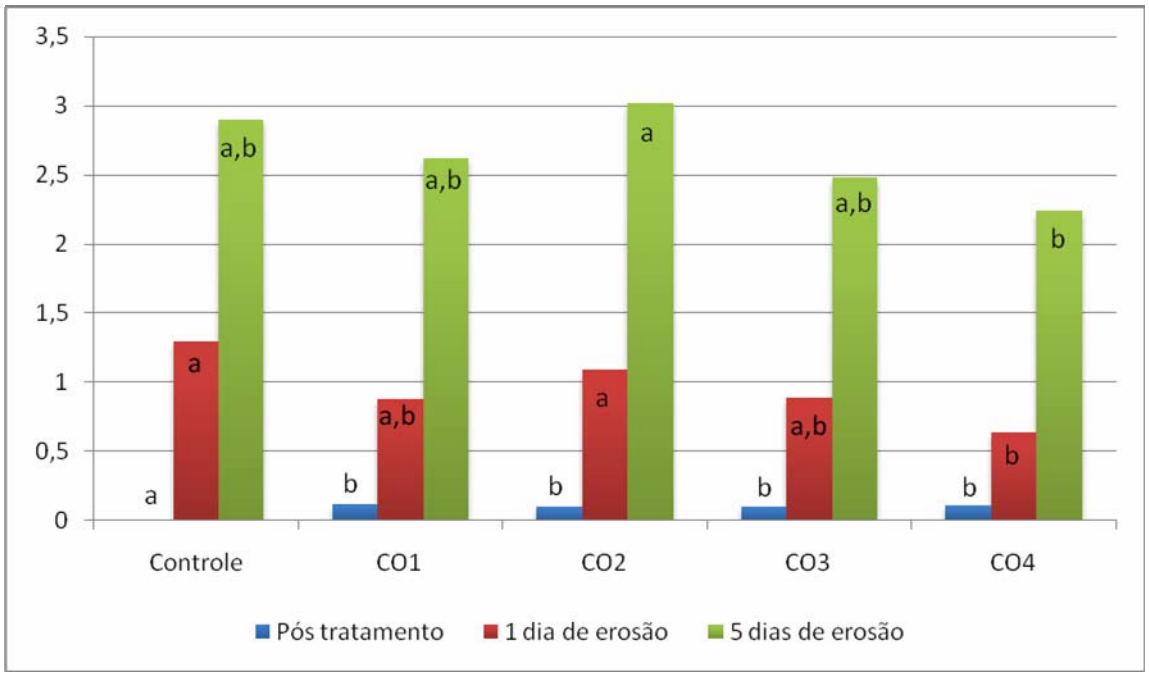
* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa (p<0,05).

Figura 12 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **Nd:YAG** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem).

5.1.2 - Resultados do laser de CO_2

5.1.2.1 - Esmalte

Com relação ao laser de CO_2, no pós tratamento, todos os grupos de esmalte apresentaram alteração da superfície estatisticamente significante em relação ao controle (Figura 13; Apêndice B). No primeiro dia de ciclagem o grupo CO4 resultou em menor desgaste em relação ao controle e em relação ao grupo CO2, entretanto após o quinto dia de ciclagem este efeito não se manteve e o grupo foi semelhante ao controle. Os outros grupos não apresentaram efeito protetor em nenhum dos dias de ciclagem (Figura 13; Apêndice B).

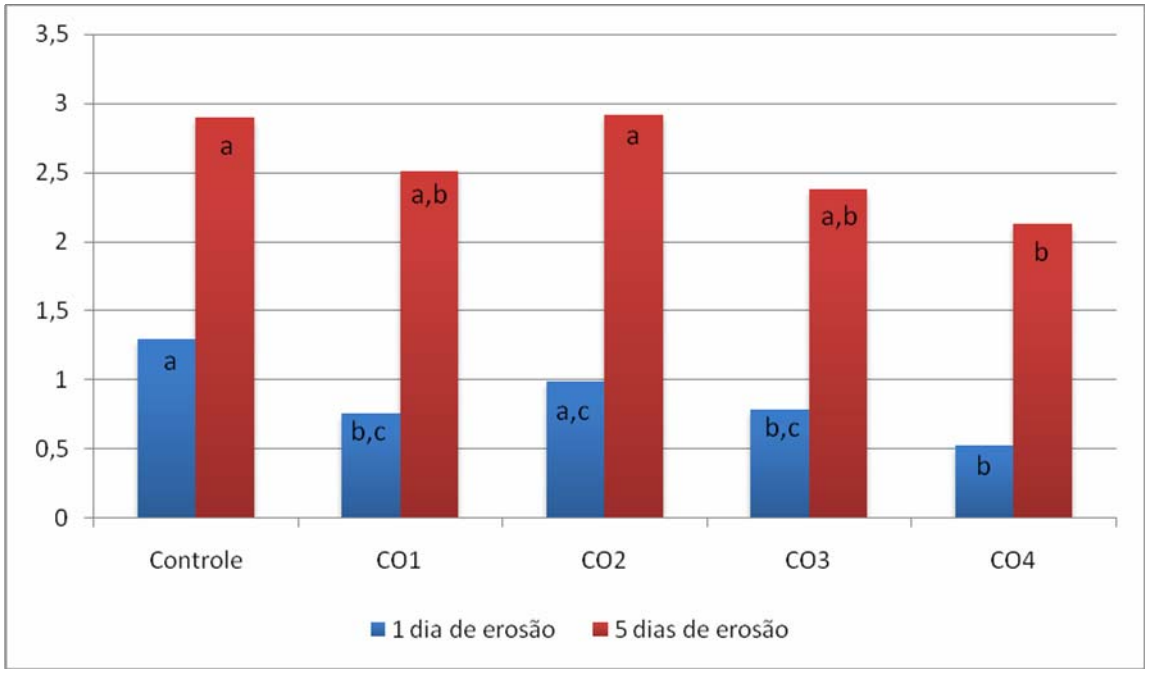


* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa ($p<0,05$).

Figura 13 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **CO_2**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).

No desgaste provocado apenas pela ciclagem erosiva (diferença), após o primeiro dia de experimento, todos os grupos apresentaram menor desgaste quando comparados ao controle, com exceção do grupo CO2. Nesta mesma fase, o grupo CO4 apresentou menor desgaste quando comparado ao grupo CO2. Após o quinto

dia de ciclagem, o grupo CO4 apresentou menor alteração de superfície do que os grupos CO2 e controle (Figura 14; Apêndice B).



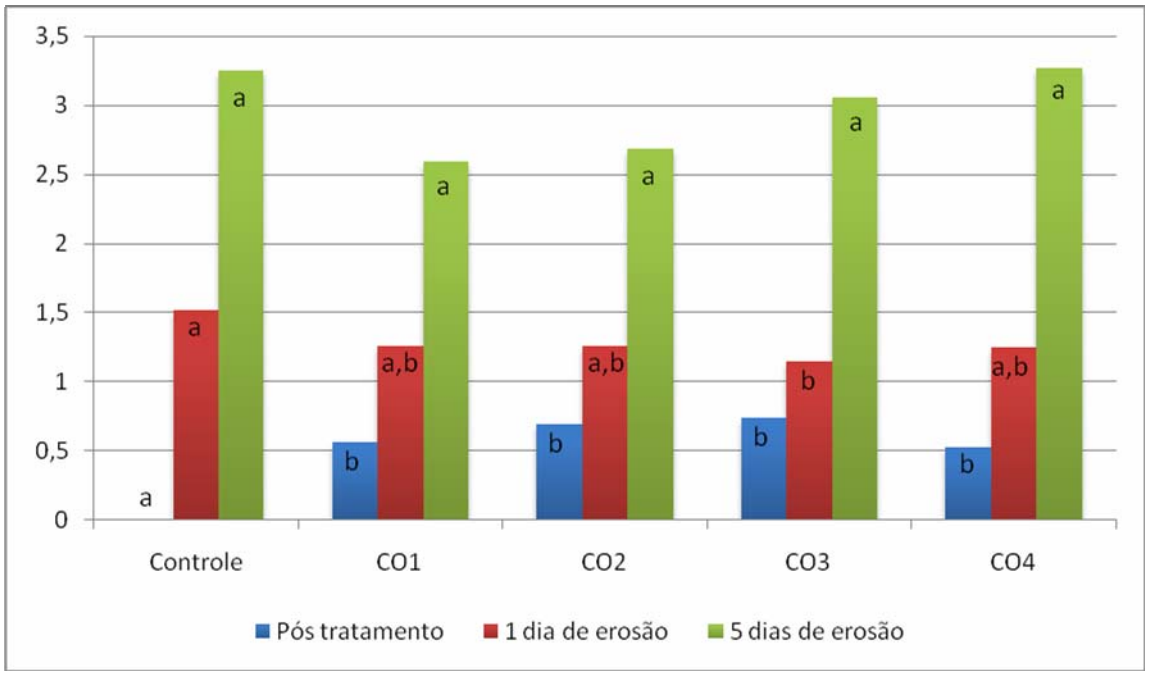
* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa ($p<0,05$).

Figura 14 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **CO_2** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem).

5.1.2.2 - Dentina

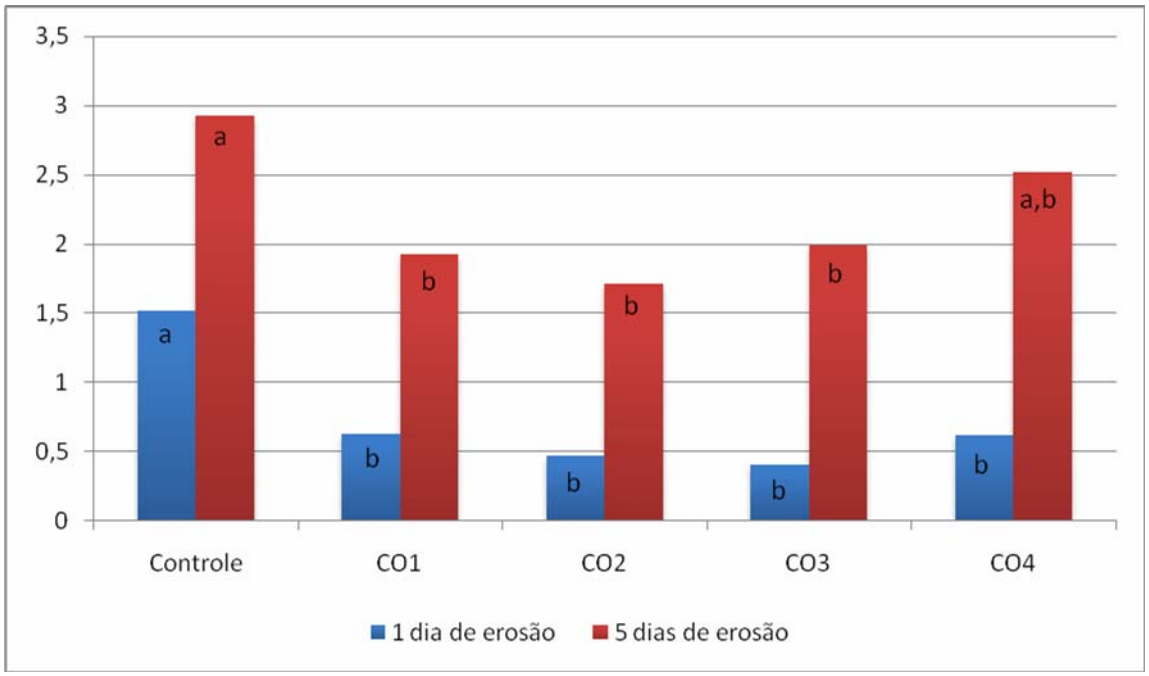
Quanto aos grupos de dentina irradiados pelo laser CO_2, no pós tratamento todos os grupos apresentaram alteração da superfície em relação ao controle. Após o 1º dia de experimento, os grupos irradiados não apresentaram diferença estatisticamente siginificante entre si, com exceção do CO3, que apresentou menor desgaste em relação ao controle. No 5º dia não foi observada diferença entre os grupos (Figura 15; Apêndice B).

No desgaste provocado apenas pela ciclagem erosiva (diferença), após o primeiro dia de experimento, todos os grupos apresentaram menor desgaste quando comparados ao controle. O mesmo resultado foi observado no quinto dia, com exceção do grupo CO4 que resultou em desgaste similar ao controle (Figura 16; Apêndice B).



* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa (p<0,05).

Figura 15 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **CO_2**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).



* Letras diferentes para cada situação correspondem a ocorrência de diferença estatística significativa (p<0,05).

Figura 16 - Média da alteração superficial (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **CO_2** após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem).

5.2 - Segunda fase

5.2.1 - Resultados do laser de Nd:YAG

5.2.1.1 - Esmalte

As tabelas 9 a 13 representam os resultados da segunda fase realizada em esmalte com a utilização do laser Nd:YAG. No pós tratamento, os grupos Nd:YAG e Nd:YAG+F submetidos à erosão prévia, apresentaram maior alteração da superfície em relação aos grupos C e F (que não demonstraram diferença estatisticamente significante entre si). Dentre os grupos não erodidos previamente, o mesmo resultado foi encontrado.

Em relação a presença ou ausência de erosão prévia, no pós tratamento, os grupos F, Nd:YAG e Nd:YAG+F com erosão prévia apresentaram maior desgaste do que seus respectivos grupos que não foram submetidos previamente a erosão (Tabela 9).

Tabela 9 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		$0^{a,A}$	0,22 (±0,14)^{b,A}	0,24 (±0,17)^{b,A}	0,10 (±0,05)^{a,A}
Sem erosão prévia		$0^{a,A}$	0,18 (±0,08)^{b,B}	0,16 (±0,11)^{b,B}	0,04 (±0,02)^{a,B}

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

No primeiro dia de ciclagem ocorreu diferença estatística tanto entre os grupos com erosão prévia quanto nos sem erosão. Entre os grupos submetidos a erosão prévia, observou-se que tanto o grupo Nd:YAG quanto o grupo F apresentaram menor alteração da superfície quando comparados ao grupo controle, mostrando o efeito preventivo de ambos tratamentos nesse caso. No entanto não houve diferença estatística entre os grupos de tratamento (Nd:YAG, Nd:YAG+F e F). Já quanto aos grupos não submetidos à erosão prévia, o grupo F também apresentou menor alteração de superfície do que os grupos controle e Nd:YAG.

Com relação a presença de erosão prévia, os grupos controle, Nd:YAG+F e F com erosão prévia apresentaram maior desgaste em relação aos seus respectivos grupos não erodidos previamente (Tabela 10).

Tabela 10 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		1,58 (±0,20)^{a,A}	1,18 (±0,33)^{b,A}	1,31 (±0,39)^{a,b,A}	1,16 (±0,40)^{b,A}
Sem erosão prévia		1,05 (±0,20)^{a,B}	1,23 (±0,41)^{a,A}	1,0 (±0,29)^{a,b,B}	0,67 (±0,23)^{b,B}

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

Já em relação ao 5º dia de ciclagem, os grupos com erosão prévia não apresentaram diferença estatística entre eles, diferentemente dos grupos sem erosão prévia, onde o grupo Nd:YAG apresentou maior desgaste quando comparado ao grupo F.

Quando considerado somente o fator erosão, todos os grupos não erodidos apresentaram desgaste significativamente menor em relação aos seus respectivos grupos previamente erodidos, com exceção do grupo controle (Tabela 11).

Tabela 11 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem erosiva.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		3,63 (±0,29)^{a,A}	4,16 (±0,99)^{a,A}	3,73 (±0,42)^{a,A}	3,68 (±0,57)^{a,A}
Sem erosão prévia		3,20 (±0,87)^{a,b,A}	3,44 (±0,51)^{a,B}	2,96 (±0,58)^{a,b,B}	2,37 (±1,07)^{b,B}

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

No desgaste provocado apenas pelo 1º dia de ciclagem erosiva (diferença) todos os grupos submetidos à erosão prévia resultaram em menor alteração de superfície do que o grupo controle. Já nos grupos sem erosão prévia, apenas o grupo F apresentou menor desgaste em relação aos grupos controle e Nd:YAG.

Quanto ao fator erosão os grupos controle e F com erosão prévia mostraram diferença estatística significante em relação aos seus respectivos grupos não submetidos à erosão prévia (Tabelas 12).

Tabela 12 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		1,58 (±0,20)^{a,A}	0,96 (±0,33)^{b,A}	1,07 (±0,35)^{b,A}	1,06 (±0,39)^{b,A}
Sem erosão prévia		1,05 (±0,20)^{a,B}	1,04 (±0,45)^{a,A}	0,83 (±0,38)^{a,b,A}	0,63 (±0,23)^{b,B}

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

No 5º dia de ciclagem erosiva os grupos submetidos à erosão prévia não apresentaram diferença estatísticamente significante. Apenas o grupo F sem erosão prévia apresentou menor alteração de superfície em relação aos grupos controle e Nd:YAG, mostrando mais uma vez o efeito preventivo do fluoreto nas lesões erosivas.

Quanto ao fator erosão os grupos Nd:YAG, Nd:YAG+F e F com erosão prévia mostraram diferença estatística significante em relação aos seus respectivos grupos não submetidos à erosão prévia (Tabela 13).

Tabela 13 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		3,63 (±0,29)^{a,A}	3,94 (±1,05)^{a,A}	3,49 (±0,54)^{a,A}	3,58 (±0,55)^{a,A}
Sem erosão prévia		3,20 (±0,87)^{a,A}	3,26 (±0,46)^{a,B}	2,80 (±0,58)^{a,b,B}	2,33 (±1,07)^{b,B}

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

5.2.1.2 - Dentina

Os resultados apresentados nas tabelas 14 a 18 representam a segunda fase realizada em dentina. No pós tratamento, nos grupos submetidos à erosão prévia, todos os grupos de tratamento resultaram em alteração da superfície significativa em relação ao controle, sendo que o grupo Nd:YAG apresentou maior alteração que o grupo F. Quanto aos grupos sem erosão prévia, os tratamentos também resultaram em alteração da superfície, sendo a alteração provocada pelo Nd:YAG foi maior que a alteração provocada pelo grupo F associado ou não ao laser. Por outro lado não foi encontrada diferença significativa entre a superfície do grupo Nd:YAG+F em relação ao grupo F.

Em relação à diferença entre os grupos erodidos e não erodidos, apenas os grupos F e Nd:YAG+F resultaram em diferença estatística, sendo que os grupos com erosão prévia mostraram maior alteração de superfície do que seus respectivos grupos sem erosão prévia (Tabela 14).

Tabela 14 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		$0^{a,A}$	0,30 (±0,09)^{b,A}	0,33 (±0,08)^{b,c,A}	0,40 (±0,07)^{b,c,A}
Sem erosão prévia		$0^{a,A}$	0,28 (±0,11)^{b,A}	0,19 (±0,05)^{c,B}	0,15 (±0,03)^{c,B}

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

Após o primeiro dia de desafio erosivo, os grupos de dentina submetidos à erosão prévia não apresentaram diferença estatística significativa. Já quanto aos grupos sem erosão prévia o grupo Nd:YAG apresentou desgaste significativamente maior em relação aos demais.

Os grupos F com e sem erosão prévia foram os únicos a apresentar diferença estatística entre si, sendo que o grupo F sem erosão prévia apresentou menor desgaste do que o previamente erodido (Tabela 15).

Tabela 15 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		2,90 (±0,95)^{a,A}	3,29 (±1,29)^{a,A}	2,66 (±0,66)^{a,A}	2,61 (±1,05)^{a,A}
Sem erosão prévia		2,19 (±0,41)^{a,A}	3,27 (±0,68)^{b,A}	2,23 (±0,57)^{a,A}	1,73 (±0,58)^{a,B}

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

No 5º dia de ciclagem erosiva, apesar de os grupos sem erosão prévia não terem apresentado diferença estatística significante, observou-se bons resultados em relação ao F associado ou não ao Nd:YAG com erosão prévia, pois estes grupos resultaram em desgaste significativamente menor que o controle. O grupo Nd:YAG provocou desgaste similar aos grupos controle e Nd:YAG+F e maior desgaste que o grupo F.

Apenas os grupos controle apresentaram diferença entre si quando analisada presença ou ausência de erosão prévia, o grupo sem erosão prévia apresentou o menor desgaste (Tabela 16).

Tabela 16 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem dentina.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		6,49 (±1,32)^{a,A}	5,14 (±1,20)^{a,c,A}	3,99 (±0,87)^{b,c,A}	3,70 (±1,64)^{b,A}
Sem erosão prévia		4,47 (±0,74)^{a,B}	4,57 (±1,48)^{a,A}	3,88 (±0,90)^{a,A}	4,12 (±1,09)^{a,A}

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

Após o primeiro dia de ciclagem, no desgaste provocado apenas pela ciclagem erosiva (diferença), nos grupos submetidos à erosão prévia nenhum tratamento apresentou efeito protetor em relação à erosão, pois nenhum deles foi diferente do controle. Dentre os grupos que não receberam erosão prévia apenas o grupo F apresentou menor alteração de superfície do que o grupo Nd:YAG. Quanto ao fator erosão, não houve diferença estatística entre os grupos (Tabela 17).

Tabela 17 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina**.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		2,90 (±0,95)^{a,A}	3,00 (±1,31)^{a,A}	2,33 (±0,69)^{a,A}	2,21 (±1,01)^{a,A}
Sem erosão prévia		2,19 (±0,41)^{a,b,A}	2,99 (±1,71)^{a,A}	2,04 (±0,53)^{a,b,A}	1,58 (±0,59)^{b,A}

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

Quanto ao desgaste resultante da diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem, todos os grupos erodidos previamente apresentaram menor desgaste em relação ao grupo controle, porém na comparação dos grupos Nd:YAG e F, o último resultou em menor alteração de superfície. Os grupos sem erosão prévia não apresentaram diferença estatisticamente significante.

Em relação ao fator erosão, o grupo controle sem erosão prévia resultou em menor desgaste em relação ao mesmo com erosão prévia (Tabela 18).

Tabela 18 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina**.

Tratamento	Grupos	Controle	Nd:YAG	Nd:YAG+F	F
Com erosão prévia		6,49 (±1,32)^{a,A}	4,84 (±1,25)^{c,A}	3,66 (±0,93)^{b,c,A}	3,30 (±1,66)^{b,A}
Sem erosão prévia		4,47 (±0,74)^{a,B}	4,29 (±1,49)^{a,A}	3,69 (±0,89)^{a,A}	3,96 (±1,11)^{a,A}

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

5.2.2 - Resultados do laser de CO_2

5.2.2.1 - Esmalte

As tabelas 19 a 23 representam os resultados dos grupos de esmalte da segunda fase do trabalho. No pós tratamento, todos os grupos submetidos à erosão prévia apresentaram maior alteração da superfície em relação ao grupo controle. Dentre os grupos que não sofreram erosão prévia, os grupos CO_2 e CO_2+F apresentaram maior desgaste em relação aos grupos F e controle.

Quando analisado o fator erosão, somente entre os grupos F, com e sem erosão prévia, foi observada diferença estatisticamente significante, sendo que o grupo sem erosão apresentou menor alteração da superfície (Tabela 19).

Tabela 19 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		$0^{a,A}$	0,08 (±0,02)^{b,A}	0,09 (±0,03)^{b,A}	0,10 (±0,05)^{b,A}
Sem erosão prévia		$0^{a,A}$	0,09 (±0,04)^{b,A}	0,08 (±0,04)^{b,A}	0,04 (±0,02)^{a,B}

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

No primeiro dia de ciclagem, em relação aos grupos erodidos previamente, o grupo F apresentou menor desgaste quando comparado aos grupos CO_2 e controle. O mesmo resultado pôde ser observado entre os grupos sem erosão prévia. Dentre esses o grupo CO_2 apresentou desgaste significativamente maior que os grupos CO_2+F e controle.

Em relação à presença ou ausência de erosão prévia, todos os grupos previamente erodidos mostraram maior desgaste em relação aos mesmos não erodidos, com exceção dos grupos CO_2, que não apresentaram diferença estatisticamente significante (Tabela 20).

Tabela 20 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		1,58 (±0,20)^{a,A}	1,61 (±0,33)^{a,A}	1,38 (±0,25)^{a,b,A}	1,16 (±0,40)^{b,A}
Sem erosão prévia		1,05 (±0,20)^{a,B}	1,49 (±0,31)^{b,A}	0,91 (±0,20)^{a,c,B}	0,67 (±0,23)^{c,B}

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

No 5º dia de ciclagem não houve diferença estatística entre os grupos erodidos previamente. Já quanto aos grupos sem erosão prévia, o grupo CO_2 apresentou maior alteração de superfície em relação aos demais grupos, inclusive o controle. O grupo F resultou em menor desgaste quando comparado ao grupo CO_2+F.

Quanto ao fator erosão, o grupo F com erosão prévia resultou em maior desgaste quando comparado ao sem erosão prévia, enquanto o grupo CO_2 com erosão prévia apresentou menor desgaste quando comparado ao seu respectivo grupo não erodido (Tabela 21).

Tabela 21 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem erosiva.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		3,63 (±0,29)^{a,A}	3,79 (±0,77)^{a,A}	3,93 (±0,69)^{a,A}	3,68 (±0,57)^{a,A}
Sem erosão prévia		3,20 (±0,87)^{a,c,A}	4,56 (±0,42)^{b,B}	3,32 (±1,24)^{a,A}	2,37 (±1,07)^{c,B}

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

No desgaste provocado apenas pela ciclagem erosiva (diferença), após o primeiro dia de ciclagem, o grupo F com erosão prévia apresentou menor desgaste quando comparado aos grupos CO_2 e controle. O mesmo resultado foi observado nos grupos não submetidos à erosão prévia. Já o grupo CO_2 sem erosão prévia apresentou maior alteração de superfície quando comparado aos grupos CO_2+F e controle. Em relação à presença ou ausência de erosão prévia, todos os grupos previamente erodidos mostraram maior desgaste em relação aos respectivos grupos não erodidos, com exceção do grupo CO_2 que não apresentou diferença estatística (Tabela 22).

Tabela 22 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		1,58 (±0,20)^{a,A}	1,52 (±0,16)^{a,A}	1,28 (±0,27)^{a,b,A}	1,06 (±0,39)^{b,A}
Sem erosão prévia		1,05 (±0,20)^{a,B}	1,47 (±0,46)^{c,A}	0,83 (±0,19)^{a,b,B}	0,63 (±0,23)^{b,B}

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

Nenhum dos grupos de esmalte submetidos à erosão prévia apresentaram diferença estatisticamente significante no desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (após o 5º dia). Dentre os grupos que não sofreram erosão prévia, o grupo CO_2 apresentou maior desgaste em relação aos demais (Tabela 23).

Quando analisado o fator erosão, somente entre os grupos CO_2, com e sem erosão prévia e F com e sem erosão prévia foi observado desgaste significativamente menor nos grupos sem erosão prévia. Independentemente do tratamento, houve diferença significativa entre os grupos com e sem erosão prévia (Tabela 23).

Tabela 23 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte**.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		3,63 (±0,29)^{a,A}	3,71 (±0,76)^{a,A}	3,83 (±0,67)^{a,A}	3,58 (±0,55)^{a,A}
Sem erosão prévia		3,20 (±0,87)^{a,A}	4,47 (±0,46)^{b,B}	3,24 (±1,23)^{a,A}	2,33 (±1,07)^{a,B}

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

5.2.2.2 - Dentina

As tabelas 24 a 28 representam os grupos de dentina da segunda fase, submetidos à irradiação com laser de CO_2. No pós tratamento, tanto os grupos submetidos à erosão prévia, quanto os sem erosão prévia, apresentaram alteração superficial quando comparados ao grupo controle, o grupo CO_2+F apresentou alteração semelhante ao grupo CO_2.

Quanto ao fator erosão, os grupos CO_2 e F previamente erodidos resultaram em maior desgaste em relação aos seus grupos não erodidos previamente (Tabela 24).

Tabela 24 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após o tratamento dos blocos.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		$0^{a,A}$	0,16 (±0,03)^{b,A}	0,23 (±0,08)^{b,A}	0,40 (±0,07)^{c,A}
Sem erosão prévia		$0^{a,A}$	0,23 (±0,04)^{b,B}	0,22 (±0,09)^{b,A}	0,15 (±0,03)^{c,B}

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

No 1º dia de ciclagem erosiva não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos submetidos à erosão prévia. Dentre os grupos sem erosão, apenas o grupo CO_2+F apresentou maior desgaste do que o grupo F. Analisando somente a erosão, os grupos C e F com erosão prévia sofreram maior desgaste do que os mesmos grupos sem erosão (Tabela 25).

Tabela 25 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 1º dia de ciclagem erosiva.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		2,90 (±0,95)^{a,A}	2,64 (±0,39)^{a,A}	2,95 (±1,10)^{a,A}	2,61 (±1,05)^{a,A}
Sem erosão prévia		2,19 (±0,41)^{a,b,B}	2,34 (±0,86)^{a,b,A}	2,67 (±0,64)^{a,A}	1,73 (±0,58)^{b,B}

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

No 5º dia de ciclagem, dentre os grupos com erosão prévia, o grupo F apresentou menos alteração superficial comparado aos grupos CO_2 e controle. O

grupo CO_2+F também apresentou menor desgaste quando comparado ao controle. Não houve diferença estatística entre os grupos sem erosão prévia.

Em relação ao fator erosão, o grupo C sem erosão prévia resultou em menor desgaste em relação ao mesmo com erosão prévia (Tabela 26).

Tabela 26 - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina**, submetidos ou não à erosão prévia, após desgaste acumulativo do 5º dia de ciclagem.

Tratamento / Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia	6,49 (±1,32)^{a,A}	5,70 (±1,34)^{a,c,A}	4,91 (±0,94)^{b,c,A}	3,70 (±1,64)^{b,A}
Sem erosão prévia	4,47 (±0,74)^{a,B}	5,21 (±1,44)^{a,A}	5,08 (±0,76)^{a,A}	4,12 (±1,09)^{a,A}

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

Analisando a diferença entre o perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem, tanto nos grupos com erosão prévia, quanto nos grupos sem, não ocorreu diferença estatisticamente significante. Somente em relação a erosão, o grupo controle com erosão apresentou maior desgaste em relação ao mesmo grupo sem erosão prévia (Tabela 27).

Tabela 27 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina**.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		2,90 (±0,95)^{a,A}	2,47 (±0,39)^{a,A}	2,72 (±1,11)^{a,A}	2,21 (±1,01)^{a,A}
Sem erosão prévia		2,19 (±0,41)^{a,B}	2,10 (±0,89)^{a,A}	2,45 (±0,66)^{a,A}	1,58 (±0,59)^{a,A}

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

Após o quinto dia de experimento o desgaste apenas do desafio erosivo não resultou em diferença estatística entre os grupos não erodidos previamente, diferentemente dos grupos submetidos a erosão prévia. O grupo CO_2 apresentou alteração superficial significativa em relação ao grupo F. Os grupos F e CO_2+F mostraram menor desgaste em relação ao controle. Quanto ao fator erosão, apenas os grupos controle apresentaram diferença significativa entre si, sendo que o grupo previamente erodido sofreu mais desgaste do que o grupo sem erosão prévia (Tabela 28).

Tabela 28 - Média (±dp) de desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina**.

Tratamento	Grupos	Controle	CO_2	CO_2+F	F
Com erosão prévia		6,49 (±1,32)^{a,A}	5,54 (±1,36)^{a,c,A}	4,68 (±0,92)^{b,c,A}	3,30 (±1,66)^{b,A}
Sem erosão prévia		4,47 (±0,74)^{a,B}	4,97 (±1,44)^{a,A}	4,86 (±0,71)^{a,A}	3,96 (±1,11)^{a,A}

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

6 Discussão

6 - DISCUSSÃO

Para maior clareza e compreensão, inicialmente será discutida a metodologia utilizada neste trabalho, seguida da discussão dos resultados.

6.1 - Metodologia empregada

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; ZEZELL 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 corresponde a uma etapa inicial conduzida in vitro que procurou investigar o efeito de diferentes densidades de energia do laser e depois associou a irradiação a fluoretos em busca de uma medida preventiva para erosão.

Os blocos utilizados no experimento foram removidos da coroa e da porção radicular de dentes bovinos, em substituição ao dente humano. 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 este motivo e devido a facilidade de obtenção, 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). No entanto, uma revisão de literatura atual, relatou que os estudos apresentam resultados conflitantes em relação à utilização de esmalte bovino como substituto ao humano em pesquisas de erosão e chamou atenção para o fato de que que estes substratos não são submetidos aos mesmos eventos genéticos, ambientais e alimentares como material humano e, como tal, podem 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 desmineralização 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 de blocos sem desmineralização e para divisão igualitária 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 aleatorimente 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).

Dentro das limitações de um estudo in vitro, 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). Para simulação do desafio erosivo, optou-se pela utilização de um ácido exógeno, proveniente de uma bebida erosiva, que fosse de fácil obtenção e de alto consumo pela população. Entre cada desafio erosivo, os espécimes foram mantidos em saliva artificial por 2 horas, 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).

Com relação ao tratamento, vários tipos de laser 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). O CO_2 proporciona uma interação muito eficiente com os tecidos dentais através da atração pelos radicais fosfato. Sabe-se que dentre os quatros comprimentos de onda principais (9,3 µm, 9,6 µm, 10,3 µm e 10,6 µm) os dois mais curtos, 9,3 e 9,6 µm, apresentam a maior absorção e coincidem com a banda de absorção do fosfato (ZUERLEIN et al., 1999). No entanto, o coeficiente de absorção é inversamente proporcional à penetração da luz laser no tecido (NIEMZ, 1996), logo a irradiação com 9,6 µm causará maior aumento de temperatura, restrita aproximadamente aos 2 µm mais externos da superfície, o que diminui o aquecimento dos tecidos subjacentes, mas restringe o efeito da irradiação as porções superficiais dos substratos dentários. Considerando que a erosão, diferentemente da cárie dentária promove uma perda da superfície

dentária em camadas, um comprimento de onda com maior penetração nos tecidos promoveria um maior efeito em longo prazo. O comprimento de onda utilizado no presente estudo foi de 10,6 µm com o objetivo de prolongar o efeito desejado. Por outro lado é importante considerar o maior risco de dano ao complexo dentino pulpar. No caso da irradiação do esmalte com laser de CO_2 que emite em 10,6 µm, o tempo de relaxamento térmico da estrutura é de 90 µs e durações de pulso da mesma ordem de grandeza ou de menor valor tem um elevado potencial para otimizar o aumento da temperatura da superfície e minimizar a difusão de calor nas camadas mais profundas (FRIED et al., 2001; APEL et al., 2002). Desta forma a duração de pulso de 50 µs, utilizada neste estudo, possibilitou o relaxamento térmico o que minimiza o efeito sobre o tecido pulpar.

Neste trabalho, o laser de CO_2 foi utilizado com energia de 28,6 J/cm^2 (2 W) em esmalte, dosimetria já comprovada na literatura de ser capaz de inibir a desmineralização por cárie (HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002), provavelmente pela indução de alterações químicas e morfológicas (STEINER-OLIVEIRA et al., 2006). O mesmo laser com energia de 14,4 J/cm^2 (1 W) foi aplicado em dentina que, por ser mais sensível à irradiação do laser do que o esmalte, recebeu menores densidades de energia. A partir desses valores de energia foram testados somente parâmetros menores para ambos os substratos, porque se partiu do princípio de que há necessidade de se encontrar uma menor potência com o máximo de efeito possível.

Os grupos Nd1 a Nd8 foram irradiados com laser Nd:YAG com diferentes energias. Boari et al. (2009) e Zezell et al. (2009) utilizaram o laser Nd:YAG irradiado com 84,9 J/cm^2 e comprovaram que este parâmetro é seguro em relação a vitalidade pulpar e já o utilizaram em estudo clínico. Desta forma, este parâmetro foi utilizado sendo testados 2 parâmetros menores e 1 maior tanto em esmalte quanto em dentina.

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 dentais 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 o delineamento deste trabalho

incluiu a utilização de corante para aumentar o efeito da irradiação laser sobre a superfície dental. O corante escolhido foi a pasta de carvão (coal paste), devido a facilidade de aplicação e remoção das superfícies dentais (BOARI et al., 2009). A pasta de carvão foi aplicada sobre os blocos seguida pela irradiação do laser de Nd:YAG, sendo este procedimento repetido por três vezes, garantindo a fusão e recristalização da superfície do esmalte (KORYTNICKI et al., 2006).

Alterações na superfície do esmalte devido ao tratamento (laser e/ou fluoreto) foram consideradas no presente estudo, já que o esmalte de unha cosmético aplicado à área de referência para determinação da profundidade da lesão foi estabelecido antes do tratamento a laser (1ª etapa) ou fluoreto (2ª etapa) e a perfilometria foi realizada após estes tratamentos. No pós tratamento algumas alterações das superfícies foram mínimas e perdas abaixo de 0,5 µm são geralmente difíceis de serem detectadas pela perfilometria, visto que o aparelho, nesse nível de perda, não é capaz de diferenciar rugosidade de desgaste (ATTIN, 2006). Por outro lado foram observadas também perdas expressivas na dentina, tanto para o laser CO_2 quanto para o Nd:YAG (> 0,5 µm), havendo necessidade de se investigar principalmente o que ocorreu em relação às fibrilas colágenas, pois o aumento da temperatura pode ter degradado a mesma, o que poderá ser investigado pela microscopia eletrônica de varredura em estudo futuro. De qualquer forma, para todos os dados foram analisadas as alterações causadas pelo pós tratamento; o desgaste cumulativo, considerando o pós tratamento adicionado das alterações causadas pela ciclagem erosiva; e apenas o desgaste causado pela ciclagem, calculado por meio da subtração ou diferença entre valor final da ciclagem cumulativa menos a alteração encontrada no pós tratamento. Assim, os resultados devem ser interpretados com cautela, pois clinicamente o efeito cumulativo é o mais relevante. Entretanto, principalmente para o desenvolvimento científico é importante saber o quanto o tratamento em si ou a ciclagem são responsáveis pela alteração final do substrato.

Até o momento não existe um protocolo clínico disponível para o diagnóstico precoce da lesão de erosão em esmalte. É difícil diagnosticar a lesão de erosão no estágio inicial, assim como parece difícil saber se há ou não exposição da dentina (LUSSI; HELLWIG, 2006). Portanto, nos estágios iniciais da erosão do esmalte, a aparência clínica é o sinal mais importante a ser identificado (GANSS, 2006). Assim, a maioria dos pacientes submetidos à prevenção já podem apresentar

lesão erosiva. Por este motivo, no presente estudo a terapia com irradiação laser associada ou não ao fluoreto foi avaliada sobre o esmalte e a dentina hígidos e previamente erodidos.

Na segunda etapa do trabalho foi feita a associação da irradiação do laser à aplicação de fluoreto. Apesar de a literatura relatar 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), neste trabalho o fluoreto foi aplicado depois, pois nos grupos de esmalte tratados com o laser de Nd:YAG o corante foi aplicado antes da irradiação e sua interação química com o fluoreto não é conhecida. Neste estudo optou-se pela utilização do fluoreto de amina (AmF) devido aos bons resultados apresentados para erosão e por ser um fluoreto de alta concentração (WIEGAND et al., 2009; WIEGAND et al., 2010a). A eficácia da solução de fluoreto de amina pode estar relacionada principalmente à formação da camada de CaF_2, que é depositada na superfície dental, especialmente quando os veículos têm um baixo pH e uma alta concentração de fluoreto (SAXEGAARD; ROLLA, 1988). Presume-se que esta camada, formada mesmo após um curto tempo de exposição ao fluoreto, que pode variar de 20 segundos a 2 minutos (PETZOLD, 2001), comporta-se como uma barreira física impedindo o contato do ácido com o esmalte subjacente ou age como um reservatório mineral, que é atacado pelo desafio erosivo, Para simular o tempo real de aplicação, a solução de fluoreto de amina foi aplicada por 60 segundos, como realizado por Wiegand e colaboradores (2010a).

6.2- Resultados

6.2.1- Primeira fase

Na primeira fase deste trabalho, os grupos de esmalte irradiados com o laser de Nd:YAG e que receberam a aplicação prévia de corante apresentaram alteração da superfície estatisticamente diferente do controle. No entanto, algumas irradiações utilizadas com corante apresentaram alteração da superfície semelhante a sem corante, que por sua vez foram estatisticamente iguais ao controle. Esse resultado pode ter ocorrido em função dos dados não terem passado no teste de normalidade e ter sido utilizado um teste não paramétrico. Como o corante foi utilizado com o objetivo de absorver a irradiação, esperava-se uma maior alteração

da superfície nestes grupos. De qualquer forma a alteração de superfície observada, com exceção dos grupos Nd3 e Nd4, não pode ser afirmada como sendo desgaste porque alterações menores do que 0,4 µm podem ser confundidas com alteração apenas da rugosidade superficial (ATTIN, 2006). Por outro lado, quanto maior a absorção da irradiação pelo tecido, menor é a sua profundidade de penetração, o que minimiza os efeitos da irradiação aos tecidos pulpares.

No primeiro dia, apesar de nenhum grupo se diferir do controle, na ciclagem cumulativa, numericamente os grupos Nd6 e Nd8 resultaram em menor desgaste. Já no efeito apenas da ciclagem (diferença), os grupos Nd4 e Nd6 foram os menores, entretanto o grupo Nd4 foi um dos que apresentou a superfície mais alterada pelo tratamento. No quinto dia, novamente não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Numericamente os grupos Nd1 e Nd6 na ciclagem cumulativa e Nd1, Nd5 e Nd6 apenas na ciclagem apresentaram menores valores de desgaste. Diante disso, o grupo Nd6 (56,6 J/cm^2) foi escolhido para ser utilizado na segunda fase, pois em média foi o que apresentou melhores resultados nas diferentes etapas.

Rios et al. (2009) utilizando o laser Nd:YAG com as densidades de energia de 35; 52,5 e 70 J/cm^2 encontraram efeito preventivo no quinto dia de ciclagem erosiva. No entanto, este desafio foi realizado com outra bebida e outro tempo (refrigerante a base de limão - 4 imersões diárias de 1 min por 5 dias/total 20 min) em relação ao presente estudo (refrigerante a base de cola - 4 imersões diárias de 2 min por 5 dias/total 40 min). Sobral et al. (2009) utilizando potência de 141,5 J/cm^2 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.

Na dentina a utilização do corante provocou alteração da superfície estatisticamente diferente do controle, sendo que estas diferentemente do esmalte podem ser consideradas desgaste, pois foram em torno de 1,5 µm. Por outro lado os grupos sem corante também apresentaram desgaste, sendo este em torno de 0,80 µm. Após 1 e 5 dias de ciclagem erosiva (cumulativa e diferença) o desgaste dos grupos irradiados foi estatisticamente similar ao controle. Resultados semelhantes fora obtidos por Magalhães et al. (2008a) utilizando as mesmas densidades de energia de Rios et al. (35; 52,5 e 70 J/cm^2), só que agora em dentina e com uma ciclagem de apenas 1 dia com 4 imersões em refrigerante a base de limão por 1 minuto. Com relação a escolha da densidade de energia para a segunda fase,

apesar das diferenças numéricas entre os grupos, optou-se pela ausência de corante em dentina, pois o mesmo resultou em grande alteração inicial. Além disso a menor potência foi escolhida, sendo que, em futuros trabalhos, menores potências devem ser estudadas.

O laser de CO_2 provocou pouca alteração no esmalte após a irradiação (≅ 0,10 µm). Ao final do primeiro dia de ciclagem cumulativa, a maior densidade de energia (CO4 - 28,8 J/cm^2) promoveu menor desgaste em relação ao grupo controle. No entanto, diferentemente do que é encontrado para o efeito do fluoreto na prevenção da cárie dentária, a irradiação laser não foi capaz de promover uma dose - resposta, o seja, quanto maior a densidade de energia, menores os valores de desgaste do esmalte. Esta característica era esperada devido ao próprio mecanismo de ação em relação à prevenção da desmineralização, que será explicado a seguir. É importante ressaltar que o efeito preventivo não foi duradouro pois no quinto dia de ciclagem cumulativa não houve diferença do esmalte irradiado com laser (28,8 J/cm^2) e o controle. No primeiro dia o desgaste cumulativo originou resultados semelhantes ao desgaste individual da ciclagem erosiva (diferença), o que era esperado devido aos pequenos valores de alteração da superfície no pós tratamento. No quinto dia, quando a alteração inicial não foi considerada no desgaste final, o grupo CO4 apresentou menor desgaste em relação ao controle. Diante dos melhores resultados do grupo CO4, este foi utilizado na segunda etapa. Steiner-Oliveira et al. (2010) utilizando potência de 1 J/cm^2 e imersão dos blocos por 45 min em ácido cítrico, não encontrou efeito preventivo do laser de CO_2 em esmalte. Por outro lado, Ramalho (2010) ao avaliar *in situ* o efeito do laser de CO_2 com densidade de energia de 0,3 J/cm^2 (λ = 10,6 mm; 5 µs; 226 Hz) sobre o esmalte dentário, observou que este tratamento associado ou não a aplicação de fluoreto reduziu a desmineralização superficial do esmalte erodido por ácido cítrico (durante 20 minutos, duas vezes ao dia). Este mesmo efeito foi observado após o 5º dia de desafio erosivo.

Talvez a utilização de densidades de energia mais altas utilizadas neste trabalho tenham promovido modificações na superfície dos substratos estudados, que não foram benéficas como esperado, esta suposição poderá ser confirmada futuramente por meio de ilustrações geradas por Microscopia Eletrônica de

Varredura. Além disso, a possibilidade de menores densidades de energia serem mais eficazes na inibição da desmineralização deve continuar a ser estudada.

A alteração superficial da dentina com o laser de CO_2 foi maior em relação ao esmalte, podendo ter ocorrido desgaste do mesmo (> 0,50 µm). No primeiro dia de erosão cumulativa, o grupo CO3 (10,75 J/cm^2) promoveu menor desgaste em relação ao controle ($p<0,05$). Quando considerada apenas a erosão, todos os grupos resultaram em menor desgaste em relação ao controle. Semelhantemente ao desgaste em esmalte, no quinto dia de ciclagem cumulativa, o efeito preventivo foi perdido e o grupo CO3 foi estatisticamente semelhante ao controle. Entretanto, devido aos seus melhores resultados no primeiro dia, esta densidade de energia foi escolhida para ser avaliada quanto a sua associação ao fluoreto. Steiner-Oliveira et al. (2010) utilizando potência de 0,6 J/cm^2 e imersão dos blocos por 45 min em ácido cítrico também não encontraram efeito preventivo do laser de CO_2 em dentina.

No presente estudo, o laser de CO_2 e Nd:YAG não foram comparados entre si porque o aumento dos níveis de variáveis em estudo tornaria a análise estatística mais complexa, diminuiria a capacidade de detecção de diferença entre os grupos e dificultaria a interpretação dos dados. Além disso, o objetivo do estudo não era comparar os dois tipos de laser, pois primeiro há necessidade de se determinar o potencial preventivo de cada um deles em relação à erosão, para depois, em outra fase, avaliar qual deles é o melhor. No entanto, apenas o laser de CO_2 apresentou um efeito, mesmo sendo este limitado.

O mecanismo de ação relacionado à diminuição da desmineralização dos dois tipos de laser utilizados neste estudo é semelhante, pois basicamente depende do aquecimento localizado da superfície, no entanto a interação com os tecidos que resulta neste aquecimento é completamente diferente pois um é bem absorvido pela hidroxiapatita (CO_2) e o outro por superfícies pigmentadas (Nd:YAG). Para previnir a cárie dentária, a irradiação do laser deve modificar a composição do substrato dental, promovendo um aumento da resistência à desmineralização. A irradiação laser também deverá ser altamente absorvida, de forma que uma grande quantidade de calor possa ser gerada, porém restrita a uma pequena profundidade no tecido para não induzir injúrias aos tecidos moles adjacentes ou à polpa (ESTEVES-OLIVEIRA, 2008; MAGALHÃES et al., 2008a; RIOS et al., 2009; WIEGAND et al., 2010a).

Apesar de a literatura explorar vastamente o mecanismo de ação da irradiação do laser no controle da desmineralização provocada pela cárie dentária, este mecanismo não é conhecido quando se trata de erosão dentária. 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; SOGNNAES, 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; SOGNNAES, 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). Klein et al. (2005) demonstraram que após a utilização de um laser de CO_2 (8 e 16 J/cm^2), com comprimento de onda 10,6 µm e operando em modo pulsado, zonas de derretimento e recristalização dos cristais de hidroxiapatita foram evidenciadas pela microscopia eletrônica de varredura, resultando em inibição da desmineralização do esmalte ao redor de restaurações de resina composta. Por outro lado, análises por microscopia eletrônica de varredura demonstraram que quando presentes, as zonas de derretimento do esmalte não foram homogêneas, ocorrendo em áreas limitadas (KANTOROWITZ et al., 1998; RODRIGUES; NOBRE DOS SANTOS; FEATHERSTONE, 2006). Borggreven, Van Dijk e Driessens (1980) medindo a penetração de traçadores iônicos e não iônicos no esmalte mostraram um aumento da permeabilidade nas regiões em que houve fusão após irradiação com laser de CO_2. Além disso, ressaltaram que o aumento da resistência à ação dos ácidos poderia ocorrer devido a algumas modificações químicas induzidas pela radiação laser, tais como a evaporação do material orgânico e do carbonato.

Assim, 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 650ºC a 1.100ºC. 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 (que normalmente já desempenha um papel protetor em situações de desafio ácido) na redução da solubilidade do esmalte. O uso de uma baixa densidade de energia (0,3 J/cm^2) pode levar ao aquecimento do esmalte a temperaturas inferiores a 400ºC 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 100ºC a 650ºC 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 CO_2 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. de Magalhães et al. (2004), após irradiarem espécimes de dentina com o laser Nd:YAG pulsado (1064 nm) concluíram que seu uso foi eficaz para obliteração da abertura dos túbulos dentinários, podendo ser aplicado no tratamento da hipersensibilidade dentinária..

Por meio dos resultados do presente estudo foi observado que o laser não obteve um efeito preventivo como 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 já 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 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 á 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. Sendo assim, as densidades de energia utilizadas neste estudo foram baseadas em densidades que apresentam efeito preventivo para a cárie dentária (HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002). No entanto, se a hipótese aqui formulada citada anteriormente for verdadeira, um menor aquecimento da superfície é necessário para a prevenção da erosão e ainda assim, não se sabe se esse efeito será capaz de superar a ação dos fluoretos. É importante enfatizar que com um maior aquecimento da superfície dentária acontecerá a decomposição protéica. Entretanto outros efeitos colaterais podem acontecer tais como ocorrência de rachaduras que podem aumentar a penetração do ácido. Daí a importância da utilização de densidades de energia menores.

Alguns autores relatam que a irradiação do laser de CO_2 pode aumentar o efeito protetor do fluoreto de amina na desmineralização do esmalte (TEPPER et al., 2004; SCHMIDLIN et al., 2007). 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 sugere que o tratamento combinando fluoreto e laser produz, sobre o esmalte dentário, numerosos precipitados esféricos que morfologicamente lembram fluoreto de cálcio, que funcionariam como um reservatório de flúor (HOSSAIN et al., 2002). O

outro mecanismo enfatiza o papel dos lasers no aumento da incorporação de fluoreto dentro da estrutura cristalizada na forma de fluorapatita (MEURMAN et al., 1997). O primeiro mecanismo está relacionado à formação de pequenas fendas ou crateras na superfície do substrato irradiado (LAN et al., 2000). Estudos relataram que essas fendas provocadas na superfície do substrato dentário pela irradiação do laser poderiam promover um possível armazenamento do fluoreto de cálcio, permitindo a maior difusão dos íons fluoreto no interior do esmalte conseqüentemente aumentando a capacidade de liberação de fluoretos ao meio bucal (GAO; PAN; HSU, 2006). Além disso, o depósito de fluoretos pode desempenhar um papel importante durante os períodos de exposição à saliva artificial, resultando em uma melhor prevenção do amolecimento e perda do esmalte pelo ataque erosivo (LAGERWEIJ et al., 2006). No presente estudo a segunda fase foi idealizada com intuito de avaliar esta associação e assumiu-se que a irradiação do laser criaria uma superfície mais reativa sobre a qual o fluoreto agiria resultando em uma camada mais estável de fluoreto de cálcio, por isso a irradiação foi realizada antes da aplicação de fluoreto.

6.2.2 - Segunda fase

Na segunda fase, no pós tratamento, a irradiação do laser de Nd:YAG em esmalte e a aplicação de fluoreto nos grupos com erosão prévia, não resultou em alteração da superfície estatisticamente diferente do controle. O grupo Nd:YAG+F com erosão prévia resultou em alteração da superfície em relação ao controle. Isso pode ter sido favorecido pelo manuseio da superfície decorrente da aplicação do corante, do fluoreto e do próprio laser. No momento da remoção do excesso de fluoreto, apesar de não se ter friccionado o papel absorvente sobre a superfície, este contato pode tê-la alterado. Esta alteração da superfície a tornou mais frágil e menos resistente à ciclagem erosiva, pois após o primeiro dia de ciclagem o grupo Nd:YAG+F com erosão prévia apresentou maior desgaste em relação ao controle. Os grupos F e Nd:YAG com erosão prévia apresentaram desgaste menor que o grupo controle, desempenhando papel preventivo sobre a erosão. Nos grupos sem erosão prévia o grupo Nd:YAG e o grupo Nd:YAG+F foram iguais ao controle. Tendo em vista que o fluoreto resultou em efeito preventivo em relação ao controle, no grupo Nd:YAG+F há possibilidade de o laser ter diminuído de alguma forma o efeito

preventivo do fluoreto, o que não era esperado. Talvez a pasta de carvão, mesmo tendo sido removida, pode ter deixado detritos, que por sua vez reagiram com o fluoreto, diminuindo sua ação. No entanto esta hipótese deve ser estudada.

Com relação ao fluoreto, resultado diferente foi encontrado por Wiegand et al. (2010a), que após o primeiro dia de ciclagem em esmalte, composto de 4 ciclos erosivos diários com duração total de 6 minutos, não observou resultado preventivo do fluoreto de amina.

No quinto dia de erosão, tanto nos grupos com erosão prévia quanto nos sem, não foi observada alteração de superfície em relação ao controle. Após comparar as médias do grupo fluoreto sem erosão prévia com as do grupo fluoreto no desgaste provocado pelo quinto dia de ciclagem, pode-se observar que tal grupo (F sem erosão prévia) apresentou valor próximo ao necessário para resultar em diferença estatística em relação ao controle. No entanto, levando em consideração somente o efeito do fluoreto, Wiegand et al. (2010a), após o quinto dia de ciclagem erosiva, composta por 20 ciclos erosivos em Sprite Zero, com duração total de 30 minutos, encontrou efeito preventivo do fluoreto de amina sobre o grupo controle. Talvez essa diferença tenha se dado pelo tempo de exposição do esmalte ao ácido durante a ciclagem erosiva, que foi menor do que no presente trabalho.

Quando considerada apenas a erosão (diferença) do primeiro dia de ciclagem, todos os grupos sem erosão prévia resultaram em menor desgaste em relação ao controle. Já quanto aos grupos erodidos previamente, apenas o grupo fluoreto resultou em efeito preventivo. Após o quinto dia, no desgaste provocado apenas pelo desafio erosivo, independentemente da análise estatística, todos os grupos com erosão prévia resultaram em maior desgaste após a ciclagem. Apenas o grupo fluoreto não submetido à erosão prévia apresentou efeito preventivo em relação ao controle. É importante ressaltar que nos estudos da literatura, os resultados obtidos dizem respeito ao desgaste cumulativo e não apenas da ciclagem erosiva (diferença), pois para esses cálculos, eventuais danos promovidos pelo tratamento são excluídos da análise. Por esse motivo a comparação dos resultados para esta análise não é indicada.

Nos grupos de dentina submetidos à irradiação com laser Nd:YAG, todos os grupos com e sem erosão prévia resultaram em alteração da superfície no pós tratamento. Entretanto, após o primeiro dia de ciclagem, nenhum dos grupos resultou em efeito preventivo em relação ao controle. Magalhães et al. (2008a)

encontraram efeito preventivo após aplicação de gel de flúor fosfato acidulado em dentina, no entanto um menor tempo de imersão da ciclagem erosiva (total 4 min) pode ter sido responsável pela diferença em relação ao presente estudo.

Apesar de nos grupos sem erosão prévia não se ter observado diferença estatisticamente significante após o quinto dia de erosão, nos grupos submetidos à erosão prévia, tanto o grupo F quanto o grupo Nd:YAG+F resultaram em menor desgaste em relação ao controle. Isso pode ter ocorrido em decorrência da maior difusão dos íons fluoreto no interior do substrato, possibitando um efeito a longo prazo.

Com exceção do fluoreto, no primeiro dia e no quinto dia apenas de ciclagem erosiva (diferença), a presença de erosão prévia não resultou em um maior desgaste dos grupos em comparação com a condição inicial hígida, como ocorreu no esmalte. Uma hipótese para este resultado é a presença de fibrilas colágenas na dentina, que de certa forma foi capaz de proteger ou até mesmo tamponar a superfície previamente erodida quando submetida a novos desafios erosivos.

A eficácia da aplicação do laser de Nd:YAG pode ter sido prejudicada por vários fatores, tais como o comprimento de onda deste, a energia emitida e as condições da superfície dentinária (seca ou molhada). O comprimento de onda adequado do laser e a energia emitida podem alterar a superfície da dentina e reduzir a progressão da desmineralização (NAYLOR et al., 2006). Quanto à emissão de energia, pode-se supor que a energia do laser usado neste estudo (42,45 J/cm^2) pode ter induzido rachaduras e fissuras em vez de fusão e ressolidificação da superfície dentinária. Lan et al. (2000) mostraram que níveis de energia variando de 100-150 mJ, muito menores dos que os utilizados no presente estudo, induziram a formação de crateras pelo laser de Nd:YAG. Apesar de ter sido relatado que essas fendas poderiam promover um possível armazenamento do fluoreto de cálcio, permitindo a maior difusão dos íons fluoreto no interior do substrato, consequentemente aumentando a capacidade de liberação de fluoretos ao meio bucal (GAO; PAN; HSU, 2006), essas também poderiam tornar a superfície mais suscetíveis ao desafio ácido (TSAI et al., 2002). Portanto, estudos complementares são necessários para analisar as mudanças superficiais e estruturais da superfície dental irradiada com laser de Nd:YAG em diferentes parâmetros.

Na segunda fase, com a utilização do laser CO_2 em esmalte, foi observada alteração mínima de superfície no pós tratamento (<0,1 µm), o que vai de

acordo com os resultados encontrados na primeira fase. No entanto, supunha-se que nos grupos com erosão prévia, a alteração da superfície seria maior, o que não foi observado (Tabela 19). Por outro lado, no primeiro dia de erosão, os grupos com erosão prévia apresentaram maiores valores numéricos de desgaste em relação aos blocos hígidos. O único grupo que apresentou menor desgaste em relação ao controle, tanto no esmalte hígido quanto previamente erodido, foi o grupo F. No trabalho de Wiegand et al. (2010a), em esmalte hígido a irradiação laser também não promoveu efeito preventivo. Entretanto na primeira fase deste trabalho esta mesma irradiação foi capaz de resultar em menor desgaste em relação ao controle. Este resultado pode ter ocorrido devido a perda de irradiação emitida pelo equipamento a qual foi detectada pela avaliação da densidade de energia de saída da ponta do laser. Tomou-se o cuidado de calcular o quanto estava sendo perdido em porcentagem e aumentar a energia, na tentativa de compensar esta perda do equipamento. No entanto, os resultados da comparação da primeira fase, que foi realizada com metodologia semelhante a segunda fase, demonstram que algo errado ocorreu em relação a este laser, haja visto que o mesmo não foi observado para o laser Nd:YAG, quando se compara as duas fases. Assim sendo, este resultado serve como um alerta da importância da calibração da irradiação para obtenção dos resultados desejados, havendo necessidade de manutenção do equipamento, uma vez que apenas a compensação da energia não é suficiente para uma correta irradiação. Diante destes problemas detectados, os resultados obtidos com o laser CO_2 da segunda fase do trabalho não serão discutidos, uma vez que existem dúvidas quanto à execução da metodologia.

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. No entanto, futuros estudos devem avaliar a ação do laser quando aplicado em densidades de energia menores do que as expostas aqui. Além disso, o mecanismo de ação do laser em relação à erosão deve ser melhor estudado, confirmando ou não sua ação através da precipitação dos produtos da decomposição do conteúdo orgânico.

7 Conclusões

7 - CONCLUSÃO

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

- Os diversos parâmetros testados para o laser Nd:YAG apresentam o mesmo comportamento sobre os substratos dentários, sem efeito preventivo em relação à erosão dentária;

- Os diversos parâmetros testados para o laser CO_2 não apresentam o mesmo efeito sobre os substratos dentários. As densidades de energia de 28,8 J/cm^2 para o esmalte e 10,7 J/cm^2 para a dentina foram as únicas com efeito preventivo em relação à erosão dentária. Sendo este efeito limitado ao primeiro dia de desafio erosivo *in vitro*;

- O recobrimento das estruturas dentárias com pigmento (corante foto absorvente) previamente à irradiação laser não interfere no efeito do laser Nd:YAG, diante de um desafio erosivo *in vitro*;

- A estrutura dentária previamente erodida quando tratada com laser e/ou fluoreto e subsequentemente submetida ao desafio erosivo *in vitro* resulta em maior desgaste quando comparada a estrutura hígida submetida a mesma situação;

- A utilização de fluoreto na maioria das situações apresentou efeito preventivo em relação à erosão, no entanto a associação do fluoreto ao laser não apresentou efeito sinérgico, tendo sido observada uma diminuição do efeito preventivo do fluoreto.

Considerando esses resultados, para os pacientes com risco de erosão dentária, a aplicação de fluoreto ainda é o tratamento com melhores resultados preventivos em relação à erosão dental.

8 Referências

8 - REFERÊNCIAS

ABIR - Associação brasileira das indústrias de refrigerantes e de bebidas não alcoólicas [homepage na internet]. Rio de Janeiro: ABIR 2011 [acesso em 2011 fev 16]. Disponível em: www.abir.org.br.

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

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. J Dent Res. 1999;78(12):1821-8.

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 Phys Lett. 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 Phys Lett. 2005;2(6):318-23.

Apel C, Franzen R, Meister J, Sarrafzadegan H, Thelen S, Gutknecht N. Influence of the pulse duration of an Er:YAG laser system on the ablation threshold of dental enamel. Lasers Med Sci. 2002;17(4):253-7.

Attin T. Methods for assessment of dental erosion. Monogr Oral Sci. 2006;20:152-72.

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.

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.

Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. Monogr Oral Sci. 2006;20:119-39.

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.

Borggreven JM, van Dijk JW, Driessens FC. Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental enamel. Arch Oral Biol. 1980;25(11-12):831-2.

Buyukyilmaz T, Ogaard B, Rolla G. The resistance of titanium tetrafluoride-treated human enamel to strong hydrochloric acid. Eur J Oral Sci. 1997;105(5 Pt 2):473-7.

Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RM, Mendes FM, De PEC, 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.

Chin-Ying SH, Xiaoli G, Jisheng P, Wefel JS. Effects of CO_2

laser on fluoride uptake in enamel. J Dent. 2004;32:161–7.

Christensen CM, Navazesh M. Anticipatory salivary flow to the sight of different foods. Appetite. 1984;5(4):307-15.

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.

de Magalhães MF, Matson E, de Rossi W, Alves JB. A morphological in vitro study of the effects of Nd:YAG laser on irradiated cervical dentin. Photomed Laser Surg. 2004;22(6):527-32.

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.

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. In: ed. São Paulo: Artes Médicas; 2002. 441-61.

Edwards M, Ashwood RA, Littlewood SJ, Brocklebank LM, Fung DE. A videofluoroscopic comparison of straw and cup drinking: the potential influence on dental erosion. Br Dent J. 1998;185(5):244-9.

Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. Caries Res. 2001;35(3):211-5.

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.

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.

Fried D, Glena RE, Featherstone JD, Seka W. Permanent and transient changes in the reflectance of CO^2 laser-irradiated dental hard tissues at lambda = 9.3, 9.6, 10.3, and 10.6 microns and at fluences of 1-20 J/cm^2. Lasers Surg Med. 1997;20(1):22-31.

Fried D, Ragadio J, Champion A. Residual heat deposition in dental enamel during IR laser ablation at 2.79, 2.94, 9.6, and 10.6 microm. Lasers Surg Med. 2001;29(3):221-9.

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, Schaffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. Caries Res. 2001;35(5):325-30.

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, 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. Definition of erosion and links to tooth wear. Monogr Oral Sci. 2006;20:9-16.

Gao XL, Pan JS, Hsu CY. Laser-fluoride effect on root demineralization. J Dent Res. 2006;85(10):919-23.

Gonzalez CD, Zakariasen KL, Dederich DN, Pruhs RJ. Potential preventive and therapeutic hard-tissue applications of CO2, Nd:YAG and argon lasers in dentistry: a review. ASDC J Dent Child. 1996;63(3):196-207.

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, Fiebiger M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. Arch Oral Biol. 2004;49(11):903-10.

Hara AT, Ando M, Cury JA, Serra MC, Gonzalez-Cabezas C, Zero DT. Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. Caries Res. 2005;39(2):134-8.

Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. J Dent Res. 2006;85(7):612-6.

Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. Monogr Oral Sci. 2006;20:88-99.

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

Honório HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Buzalaf MA, Machado MA. Effects of erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges on human enamel: an in situ/ex vivo study. Caries Res. 2008;42(6):454-9.

Honório HM, Rios D, Santos CF, Buzalaf MA, Machado MA. Influence of dental plaque on human enamel erosion: in situ/ex vivo study. Oral Health Prev Dent. 2010a;8(2):179-84.

Honório HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Delbem AC, Buzalaf MA, et al. Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges. Caries Res. 2010b;44(1):29-32.

Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Ito M, Yamada Y, Matsumoto K. Acquired acid resistance of dental hard tissues by CO2 laser irradiation. J Clin Laser Med Surg. 1999;17(5):223-6.

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.

Huang GF, Lan WH, Guo MK, Chiang CP. Synergistic effect of Nd:YAG laser combined with fluoride varnish on inhibition of caries formation in dental pits and fissures in vitro. J Formos Med Assoc. 2001;100(3):181-5.

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

Jaeggi T, Gruninger A, Lussi A. Restorative therapy of erosion. Monogr Oral Sci. 2006;20:200-14.

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

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.

Kantorowitz Z, Featherstone JDB, Fried D. Caries prevention by CO2 laser treatment: dependency on the number of pulses used. J Am Dent Assoc. 1998;129(5):585-91.

Klein AL, Rodrigues LK, Eduardo CP, Nobre dos Santos M, Cury JA. Caries inhibition around composite restorations by pulsed carbon dioxide laser application. Eur J Oral Sci. 2005;113(3):239-44.

Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. J Dent Res. 1994;73(9):1523-9.

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.

Korytnicki D, Mayer MP, Daronch M, Singer Jda M, Grande RH. Effects of Nd:YAG laser on enamel microhardness and dental plaque composition: an in situ study. Photomed Laser Surg. 2006;24(1):59-63.

Kreulen CM, Van't Spijker A, Rodriguez JM, Bronkhorst EM, Creugers NH, Bartlett DW. Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. Caries Res. 2010;44(2):151-9.

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.

Lambrechts P, Van Meerbeek B, Perdigao J, Gladys S, Braem M, Vanherle G. Restorative therapy for erosive lesions. Eur J Oral Sci. 1996;104(2 (Pt 2)):229-40.

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.

Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res. 1999;33(1):81-7.

Laurance-Young P, Bozec L, Gracia L, Rees G, Lippert F, Lynch RJ, et al. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralisation. J Dent. 2011;39(4):266-72.

Lee VM, Linden RW. An olfactory-submandibular salivary reflex in humans. Exp Physiol. 1992;77(1):221-4.

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

LeGeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. Monogr Oral Sci. 1991;15:1-201.

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

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

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; 2008c.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, Honorio HM, Jorge AM, Jr., Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on dental erosion by a soft drink: an in situ/ex vivo study. Arch Oral Biol. 2008c;53(5):399-404.

Magalhães AC, Kato MT, Rios D, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. Effect of a single application of TiF4 and NaF varnishes and solutions on dentin erosion in vitro Caries Res. 2008d;42(4):269-74.

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.

Makela M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status. J Dent Res. 1994;73(8):1397-406.

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.

Mazzoni A, Pashley DH, Tay FR, Gobbi P, Orsini G, Ruggeri A, Jr., et al. Immunohistochemical identification of MMP-2 and MMP-9 in human dentin:

correlative FEI-SEM/TEM analysis. J Biomed Mater Res A. 2009;88(3):697-703.

Meurman JH, Harkonen M, Naveri H, Koskinen J, Torkko H, Rytomaa I, et al. Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect. Scand J Dent Res. 1990;98(2):120-8.

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

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

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

Milosevic A, Kelly MJ, McLean AN. Sports supplement drinks and dental health in competitive swimmers and cyclists. Br Dent J. 1997;182(8):303-8.

Ministério da Saúde - Brasil Sorridente [homepage na internet]. SB Brasil: condições de saúde bucal da população brasileira; [acesso em 2010 out 28]. Disponível em: http://www.saude.gov.br.

Monteiro C A, Mondini L, Costa R B L. Mudanças na composiçäo e adequaçäo nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). Rev Saude Publica. 2000;34(3): 251-8.

Morgan KJ, Stults VJ, Stampley GL. Soft drink consumption patterns of the U.S. population. J Am Diet Assoc. 1985;85(3):352-4.

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 pulsedlow-energy infrared laser radiation. Caries Res. 1987;21(5):411-26.

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. first ed. ed. Berlin: Springer-Verlag; 1996.

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

O'Sullivan EA, Curzon ME, Roberts GJ, Milla PJ, Stringer MD. Gastroesophageal reflux in children and its relationship to erosion of primary and permanent teeth. Eur J Oral Sci. 1998;106(3):765-9.

Oho T, Morioka T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. Caries Res. 1990;24(2):86-92.

Patel CKN, McFarlane RA, Faust WL. Selective excitation through vibrational energy transfer and optical maser action in N_2-CO_2. Physiol Rev. 1964;13:617-9.

Peterson G, Bratthall D. The caries decline: a review of reviews. Eur J Oal Sci. 1996;104(4 (Pt 2)):436-43.

Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF(2) precipitation and microstructure. Caries Res. 2001;35 Suppl 1:45-51.

Phelan J, Rees J. The erosive potential of some herbal teas. J Dent. 2003;31(4):241-6.

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, Honorio HM, Magalhães AC, Silva SM, Delbem AC, Machado MA, et al. Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel. Braz Oral Res. 2008a;22(2):132-8.

Rios D, Magãlhaes 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.

Rios D, Santos FC, Honorio HM, Magalhaes AC, Wang L, Machado MA, et al. An in situ/ex vivo comparison of the ability of regular and light colas to induce enamel wear when erosion is combined with abrasion. Quintessence Int. 2011;42(3):e44-50.

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.

Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Featherstone JD. In situ mineral loss inhibition by CO_2 laser and fluoride. J Dent Res. 2006;85(7):617-21.

Rytomaa I, Jarvinen V, Kanerva R, Heinonen OP. Bulimia and tooth erosion. Acta Odontol Scand. 1998;56(1):36-40.

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.

Scheutzel P. Etiology of dental erosion--intrinsic factors. Eur J Oral Sci. 1996;104(2 (Pt 2)):178-90.

Schlueter N, Ganss C, Mueller U, Klimek J. Effect of titanium tetrafluoride and sodium fluoride on erosion progression in enamel and dentine in vitro. Caries Res. 2007;41(2):141-5.

Schmidlin PR, Dorig I, Lussi A, Roos M, Imfeld T. CO_2 laser-irradiation through topically applied fluoride increases acid resistance of demineralised human enamel in vitro. Oral Health Prev Dent. 2007;5(3):201-8.

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 Suppl 1:49-55.

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.

Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Zezell DM, Nobre-dos-Santos M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-microm CO_2 laser on the inhibition of enamel demineralization. Dent Mater J. 2006;25(3):455-62.

Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, Zero DT, Eckert G, Hara AT. Effect of a pulsed CO_2 laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. Arch Oral Biol. 2010;55(2):127-33.

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.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser Effect on Dental Hard Tissues. A Preliminary Report. J South Calif Dent Assoc. 1965;33:17-9.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. Arch Oral Biol. 2007;52(2):121-7.

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.

ten Cate J M, Imfeld T. Dental erosion, summary . Eur J Oral Sci. 1996; 104: 241-44.

Tenuta LMA et al. Associação clínica de lasers e fluoretos na prevenção de lesões cariosas. In: Tenuta LMA, da Ana PA, Zezell DM, Cury JA. Pró-odonto prevenção: programa de atualização em odontologia preventiva e saúde coletiva. Porto Alegre; 2010. p.117-56.

Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO_2 laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel in vitro. J Dent. 2004;32(8):635-41.

Tezel H, Ergucu Z, Onal B. Effects of topical fluoride agents on artificial enamel lesion formation in vitro. Quintessence Int. 2002;33(5):347-52.

Tjaderhanel L, Larjaval H, Sorsa T, Uitto V, Lannas M, Salol T. The Activation and Function of Host Matrix Metalloproteinases in Dentin Matrix Breakdown in Caries Lesions. J Dent Res. 1998;77(8):1622-29.

Tsai CL, Lin YT, Huang ST, Chang HW. In vitro acid resistance of CO_2 and Nd-YAG laser-treated human tooth enamel. Caries Res. 2002;36(6):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.

Tveit AB, Hals E, Isrenn R, Totdal B. Highly acid SnF2 and TiF4 solutions. Effect on and chemical reaction with root dentin in vitro. Caries Res. 1983;17(5):412-8.

van Rijkom H, Ruben J, Vieira A, Huysmans MC, Truin GJ, Mulder J. Erosion-inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment in vitro. Eur J Oral Sci. 2003;111(3):253-7.

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, Ruben JL, Huysmans MC. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. Caries Res. 2005;39(5):371-9.

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. 2007;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.

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, Bichsel D, Magalhaes 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 TiF4, ZrF4, HfF4 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.

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.

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.

Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ. Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. J Dent Res. 1976;55(4):664-70.

Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. Eur J Oral Sci. 1996;104(2 (Pt 2)):162-77.

Zero DT, Lussi A. Erosion-chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. Int Dent J. 2005;55(4 Suppl 1):285-90.

Zero DT, Lussi A. Behavioral factors. Monogr Oral Sci. 2006;20:100-5.

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 JDB , Seka W. Optical properties of dental enamel in the mid-IR determined by pulsed photothermal radiometry. J Sel Top Quant 1999; 5(4):1083-9.

Apêndices

APÊNDICE A

Tabela 1A - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **Nd:YAG**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).

Desgaste*	Controle	Nd1	Nd2	Nd3	Nd4	Nd5	Nd6	Nd7	Nd8
Pós-tratamento	0 [a]	0,19 (±0,27)[a,c]	0,15 (±0,13)[a,c]	0,42 (±0,16)[b]	0,57 (±0,52)[b,c]	0,16 (±0,41)[b,c]	0,23 (±0,16)[b,c]	0,27 (±0,47)[b,c]	0,14 (±0,07)[b,c]
1 dia erosão	1,30 (±0,40)[a]	1,14 (±0,42)[a]	1,14 (±0,34)[a]	1,23 (±0,34)[a]	1,25 (±0,43)[a]	1,15 (±0,59)[a]	1,0 (±0,42)[a]	1,38 (±0,49)[a]	0,95 (±0,50)[a]
5 dias erosão	2,9 (±0,69)[a]	2,75 (±0,50)[a]	3,04 (±0,64)[a]	3,59 (±0,63)[a]	3,56 (±0,41)[a]	3,0 (±0,83)[a]	2,98 (±0,86)[a]	3,40 (±0,56)[a]	3,18 (±0,71)[a]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa ($p<0,05$).

Tabela 2A - Média (±dp) da perfilometria (µm) após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **Nd:YAG**.

Diferença*	Controle	Nd1	Nd2	Nd3	Nd4	Nd5	Nd6	Nd7	Nd8
1 dia erosão	1,30 (±0,40)[a]	0,95 (±0,53)[a]	0,99 (±0,39)[a]	0,82 (±0,44)[a]	0,68 (±0,76)[a]	0,99 (±0,46)[a]	0,78 (±0,27)[a]	1,12 (±0,63)[a]	0,81 (±0,33)[a]
5 dias erosão	2,90 (±0,42)[a]	2,56 (±0,56)[a]	2,90 (±0,59)[a]	3,18 (±0,69)[a]	2,99 (±0,63)[a]	2,04 (±0,84)[a]	2,76 (±0,85)[a]	3,14 (±0,74)[a]	3,04 (±0,72)[a]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa ($p<0,05$).

Tabela 3A - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **Nd:YAG**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).

Desgaste*	Controle	Nd1	Nd2	Nd3	Nd4	Nd5	Nd6	Nd7	Nd8
Pós-tratamento	0 [a]	0,89 (±0,32)[a,c]	0,76 (±0,51)[a,c]	0,99 (±0,38)[a,c]	0,87 (±0,26)[a,c]	1,26 (±0,41)[b,c]	1,64 (±0,40)[b,c]	1,64 (±0,53)[b,c]	2,02 (±0,57)[b]
1 dia erosão	1,52 (±0,20)[a,b]	1,44 (±0,30)[a]	1,54 (±0,26)[a,b]	1,35 (±0,41)[a,b]	1,42 (±0,24)[a]	1,43 (±0,20)[a]	1,68 (±0,46)[a,b]	2,06 (±0,61)[b,c]	2,37 (±0,70)[c]
5 dias erosão	3,25 (±0,51)[a]	3,32 (±0,41)[a]	3,42 (±0,54)[a]	3,03 (±0,91)[a]	3,07 (±0,87)[a]	3,17 (±1,03)[a]	3,64 (±0,84)[a]	3,51 (±0,80)[a]	3,24 (±0,90)[a]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa ($p<0,05$).

Tabela 4A - Média (±dp) da perfilometria (µm) após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **Nd:YAG**.

Diferença*	Controle	Nd1	Nd2	Nd3	Nd4	Nd5	Nd6	Nd7	Nd8
1 dia erosão	1,52 (±0,20)[a]	0,55 (±0,55)[b,c]	0,77 (±0,52)[a,c]	0,36 (±0,57)[b,c]	0,55 (±0,40)[b,c]	0,17 (±0,42)[b,c]	0,04 (±0,49)[b,c]	0,41 (±0,57)[b,c]	0,34 (±1,14)[b,c]
5 dias erosão	2,93 (±0,62)[a]	2,05 (±0,69)[a,c]	2,33 (±1,02)[a]	2,04 (±1,12)[a,c]	1,73 (±0,78)[a,c]	1,34 (±0,85)[b,c]	1,40 (±0,68)[a,c]	1,12 (±1,14)[b,c]	0,70 (±1,55)[b,c]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa ($p<0,05$).

APÊNDICE B

Tabela 1B – Médi-a da perfilometria (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **CO_2**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).

Desgaste*	Controle	CO1	CO2	CO3	CO4
Pós-tratamento	0 [a]	0,12 (±0,09)[b]	0,1 (±0,05)[b]	0,10 (±0,04)[b]	0,11 (±0,05)[b]
1 dia erosão	1,30 (±0,40)[a]	0,88 (±0,35)[a,b]	1,09 (±0,20)[a]	0,89 (±0,46)[a,b]	0,64 (±0,29)[b]
5 dias erosão	2,90 (±0,42)[a,b]	2,62 (±0,60)[a,b]	3,02 (±0,50)[a]	2,48 (±0,68)[a,b]	2,24 (±0,60)[b]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa (p<0,05).

Tabela 2B - Média (±dp) da perfilometria (µm) após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **esmalte** irradiados com **CO_2**.

Diferença*	Controle	CO1	CO2	CO3	CO4
1 dia erosão	1,30 (±0,40)[a]	0,76 (±0,37)[b,c]	0,99 (±0,23)[a,c]	0,79 (±0,45)[b,c]	0,53 (±0,31)[b]
5 dias erosão	2,90 (±0,42)[a]	2,51 (±0,67)[a,b]	2,92 (±0,53)[a]	2,38 (±0,69)[a,b]	2,13 (±0,61)[b]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa (p<0,05).

Tabela 3B - Média (±dp) da perfilometria (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **CO_2**, após o tratamento dos espécimes e após desgaste acumulativo do pós tratamento e ciclagem erosiva (1 e 5 dias).

Desgaste*	Controle	CO1	CO2	CO3	CO4
Pós-tratamento	0 [a]	0,56 (±0,30)[b]	0,69 (±0,40)[b]	0,74 (±0,28)[b]	0,53 (±0,21)[b]
1 dia erosão	1,52 (±0,19)[a]	1,26 (±0,19)[a,b]	1,26 (±0,16)[a,b]	1,15 (±0,17)[b]	1,25 (±0,37)[a,b]
5 dias erosão	3,25 (±0,51)[a]	2,59 (±0,48)[a]	2,69 (±0,71)[a]	3,06 (±0,67)[a]	3,27 (±0,82)[a]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa (p<0,05).

Tabela 4B - Média (±dp) da perfilom
etria (µm) após desafio erosivo (diferença entre perfil do pós-tratamento e 1º ou 5º dia de ciclagem) (µm) dos grupos de **dentina** irradiados com **CO_2**.

Diferença*	Controle	CO1	CO2	CO3	CO4
1 dia erosão	1,52 (±0,20)[a]	0,63 (±0,33)[b]	0,47 (±0,43)[b]	0,41 (±0,37)[b]	0,62 (±0,53)[b]
5 dias erosão	2,93 (±0,62)[a]	1,93 (±0,69)[b]	1,71 (±0,74)[b]	1,99 (±0,53)[b]	2,52 (±0,80)[a,b]

* Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística significativa ($p<0,05$).