Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia

Juliana dos Reis Derceli

Avaliação do efeito da associação da irradiação laser Er:YAG com flúor no esmalte dental submetido à erosão

Ribeirão Preto

2010

JULIANA DOS REIS DERCELI

Avaliação do efeito da associação da irradiação laser Er:YAG com flúor no esmalte dental submetido à erosão

Dissertação apresentada na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Odontologia

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. César Bataglion

Ribeirão Preto

2010

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

Assinatura do autor: _____

Data:___/___/_____

Avaliação do efeito da associação da irradiação laser Er:YAG com flúor no esmalte dental submetido à erosão

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC-USP

Derceli, Juliana dos Reis

Avaliação do efeito da associação da irradiação laser Er:YAG com flúor no esmalte dental submetido à erosão / Juliana dos Reis Derceli; orientador César Bataglion. - Ribeirão Preto, 2010.

78p. :il.: 30 cm

Dissertação de mestrado apresentado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Odontologia Restauradora – *Área de concentração*: Dentística.

1. Desgaste dental. 2. Desmineralização dental. 3. Erosão dental. 4. Fluoreto de fosfato acidulado. 5. Laser Er:YAG.

Nome: Derceli, Juliana dos Reis.

Título: Avaliação do efeito da associação da irradiação laser Er:YAG com flúor no esmalte dental submetido à erosão

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Dentística.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____

Julgamento:_____

Assinatura:_____

Profa. Dr._____

Instituição: _____

Julgamento:_____

Assinatura:_____

Profa. Dr._____

Instituição:_____

Julgamento:_____

Assinatura:_____

Dedicatória

Ao meu esposo Felipe

Pelo incentivo e companheirismo, por estar comigo em todos os momentos bons e difíceis me ajudando a ser forte e a superar todas as barreiras. Por compreender minhas horas de ausência e sempre me receber em casa com um grande sorriso.

Aos meus pais, Ana Dalva e João Batista

À vocês, pais queridos, que sempre foram minha inspiração, à vocês que me deram todas as oportunidades de crescer e de ser a pessoa que sou. Sem o apoio, o amor incondicional e a confiança que sempre depositaram em mim nada disso seria possível.

Á minha querida avó, Tereza

Minha segunda mãe, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, sempre com palavras de afeto, de fé, amor e experiência.

Ás minhas irmãs, Luciana e Giovana

Minhas queridas irmãs, mesmo estando distante de vocês por tantos anos continuamos sendo amigas e companheiras, dividindo experiências e aventuras.

Ao meu cunhado, Alexandre

Sempre fazendo piadinhas, deixando meus finais de semana mais divertidos e sempre me auxiliando quando precisei.

À Monique

Minha linda sobrinha que ilumina minha vida.

À minha sogra Ana Maria e minha cunhada Letícia

Pelo apoio e incentivo, estando sempre presentes nos momentos importantes.

Amo vocês!!!

Agradecimentos Especiais

*Agradeço a **Deus** por me dar a vida, a família e o esposo que tenho, agradeço por me guiar em minhas escolhas e me mostrar o caminho certo.*

*À minha **Família** que sempre está presente, me dando segurança para enfrentar os desafios e as dificuldades.*

*À **Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb**, por me orientar e me amparar desde o momento em que cheguei à USP, sempre me inspirando com bons exemplos de competência, honestidade e ética, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada pelo respeito e amizade.*

*Ao meu orientador **Prof. Dr. César Bataglion,** que sempre esteve disponível em tudo que precisei.*

*À **Dra. Juliana Jendiroba Faraoni Romano,** grande amiga com a qual tenho muita honra de trabalhar, demonstração de competência, responsabilidade e companheirismo.*

*À **Carmen,** uma grande amiga, presente em muitos momentos.*

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, através de seu diretor ***Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon****.*

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, na pessoa do ***Prof. Dr. Manoel Damião de Souza Neto****, que desempenha seu papel com sucesso e dedicação.*

Ao vice-coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, ***Prof. Dr. Marcelo Oliveira Mazetto****.*

Ao ***Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora****, por permitir a utilização do laser Er:YAG do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP.*

Ao técnico ***Reginaldo Santana da Silva****, por auxiliar na execução dos procedimentos com o laser Er:YAG.*

À técnica do laboratório de Dentística do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP ***Patrícia Marchi****, por me auxiliar na execução do projeto de pesquisa e pela amizade.*

À instituição de fomento ***CAPES****, pela bolsa de mestrado.*

Aos amigos e amigas ***Danielle, Taísa, Sandra, Kelly, Renata, Daniel, César, Vinícius e Wálter****, companheiros de horas infindáveis de laboratório, sempre bem humorados e dispostos a me ajudar no que foi necessário.*

Aos ***Funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora*** *e aos* ***Funcionários da Seção de Pós-Graduação*** *da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, que de alguma forma de auxiliaram durante a minha caminhada.*

Resumo

Derceli, JR. Avaliação do efeito da associação da irradiação laser Er:YAG com flúor no esmalte dental submetido à erosão [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2010. 78f.

A erosão dental é uma lesão causada pela dissolução mineral do esmalte, através da ação de ácidos oriundos do suco gástrico ou da alimentação. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do laser Er:YAG na prevenção da erosão do esmalte associado ou não ao flúor e avaliar alterações químicas e morfológicas do esmalte após os tratamentos preventivos. Para tanto, foram obtidos 95 espécimes a partir de esmalte bovino (4x4mm), os quais foram planificados, polidos e divididos aleatoriamente em 5 grupos de acordo com os tratamentos preventivos realizados (G1- laser Er:YAG; G2- laser + flúor; G3- flúor + laser; G4- laser simultaneamente flúor; G5- flúor). A metade da superfície do esmalte de cada espécime foi isolada com esmalte cosmético e cera utilidade (área controle) e a outra metade exposta ao tratamento superficial. O laser foi irradiado por 10 segundos, sem refrigeração, modo focado, não contato, 4 mm de distância focal e 60 mJ/cm^2 e 2Hz, o gel fluoretado foi aplicado por 4 minutos. O desafio erosivo ocorreu em Coca-Cola à temperatura ambiente, 4x/dia, por 1 minuto, durante 5 dias. O grau de desmineralização do esmalte foi avaliado por meio da microscopia óptica, do desgaste e da microdureza, as alterações químicas e morfológicas através da MEV/EDS. Os dados da microscopia óptica e microdureza foram analisados por meio da Análise de Variância a 1 Critério, para o desgaste foi utilizado o método não-paramétrico Kruskal-Wallis e para a MEV/EDS foi realizada a análise descritiva dos dados. Nos resultados da microscopia óptica observou-se que os grupos 3 e 4, F+L e FeL respectivamente, apresentaram menor desmineralização em relação aos demais grupos, nos resultados do desgaste observou-se que os grupos 4 e 5, FeL e F respectivamente, apresentaram menor desgaste, os grupos 2 e 3 apresentaram maior desgaste e o grupo 1 foi semelhante ao grupo 4. Os resultados de dureza não demonstram diferença estatística entre os grupos, tendo ocorrido diminuição da dureza em relação ao grupo controle, exceto pelo o grupo L. Na análise da EDS o grupo 5 (FeL) apresentou maior retenção de flúor, cerca de 174%, seguido pelos grupos 4 (F) e 3

(F + L), os quais aumentaram o conteúdo de flúor em 27% e 10% respectivamente, os grupos 1 (L) e 2 (L+F) apresentaram diminuição do conteúdo de flúor de 39% e 7,5%, respectivamente. Todos os grupos apresentaram diminuição do conteúdo de Ca e P, exceto o grupo 2 (L+F). Na MEV observou-se áreas ablacionadas. Concluí-se a irradiação laser utilizada simultaneamente à aplicação tópica de flúor foi capaz de promover maior retenção de flúor ao esmalte dental, menor desmineralização e desgaste do esmalte dental, o emprego do flúor isoladamente e do flúor aplicado simultaneamente ao laser proporcionaram menor desgaste do esmalte, o laser Er:YAG promoveu ablação superficial do esmalte quando irradiado com fluência de 60mJ/$cm_{2,}$ 2Hz e sem refrigeração.

Palavras-chave: Desgaste dental. Desmineralização dental. Erosão dental. Fluoreto fosfato acidulado. Laser Er:YAG.

Abstract

Derceli, JR. Evaluation of the association effect of the Er:YAG laser irradiation with fluoride on enamel submitted to the erosion [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2010. 78f.

The dental erosion is a lesion caused by loss of enamel mineral due to the acids action originated from gastric juice or dietary. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of the Er:YAG laser on the prevention of enamel erosion associated or not to the fluoride, and to evaluate chemical and morphological changes of enamel after preventive treatments. Thus, 95 bovine enamel samples (4X4 mm) were ground flat, polished and randomly divided into 5 groups according to the preventive treatments: G1- Er:YAG laser; G2- laser + fluoride; G3- fluoride + laser; G4- laser simultaneously fluoride; G5- fluoride. Half of the enamel surface was covered with nail varnish and wax (control area) and the other half exposed to the treatments. The laser was irradiated (focused mode, without water cooling, 10 s, 60 mJ/2Hz and focal distance of 4mm) and the fluoride gel was applied for 4 min. Each specimen was individually exposed to soft drink Coca-Cola 4 times/day, during 1 minute, for 5 days. It was evaluated the enamel demineralization degree (optical microscopy), wear depth (perfilometer) and microhardness. Chemical and morphological alterations were evaluated by SEM/EDS. Optical microscopy and microhardness data were analyzed by one-way ANOVA, for wear depth was used Kruskal-Wallis non-parametric method and for SEM/EDS was performed descriptive data analysis. For optical microscopy, G3 and G4 presented lower demineralization than the other groups; for wear, G4 and G5 exhibited lower values, G2 and G3 presented higher values and G1 did not differ from G4. The microhardness results did not show statistical difference among the groups. Microhardness decreasead in relation to the control group, except for G1. In the EDS analysis, G5 presented higher fluoride retention, about 174%, followed by G4 and G3 which increased the fluoride content in 27% and 10% respectively, G1 and G2 presented decrease of the fluoride content of 39% and 7.5% respectively. All the groups presented decrease of the Ca and P content, except G2. In the MEV, ablated areas were observed. It can be concluded that laser irradiation used simultaneously to the fluoride was able to promote higher fluoride retention to enamel, lower demineralization and wear. The use of the fluoride

alone and fluoride applied simultaneously to the laser provided lower wear. The Er:YAG laser caused enamel superficial ablation when irradiated with 60mJ/cm^2 fluence, 2 Hz, and without refrigeration.

Key Words: Acidualated phosphate fluoride. Laser Er:YAG. Tooth erosion. Tooth demineralization. Tooth wear.

Lista de Figuras

Figura 1	Obtenção dos espécimes – A) Incisivo bovino. B) Coroa separada da raiz, ilustrando os cortes que serão realizados. C) Espécimes obtido após os cortes.....	40
Figura 2	Máquina de corte.....	40
Figura 3	Paralelômetro.....	40
Figura 4	Microdurômetro.....	40
Figura 5	Espécime com as indentações.....	40
Figura 6	Espécime impermeabilizado.....	40
Figura 7	Laser Er:YAG.....	40
Figura 8	Fluoreto fosfatado acidulado.....	41
Figura 9	Aplicação do flúor sobre o espécime.....	41
Figura 10	Desafio erosivo em Coca-Cola.....	41
Figura 11	Máquina agitadora.....	41
Figura 12	Rugosímetro.....	41
Figura 13	Espécime incluído em resina.....	41
Figura 14	Matriz de silicona.....	41
Figura 15	Indentações no espécime.....	41
Figura 16	Microscópio óptico.....	41
Figura 17	Microscopia óptica.....	41
Figura 18	Stubs contendo os espécimes.....	41
Figura 19	Box Plot da dispersão dos dados, média, mediana e desvio padrão para os diferentes grupos.....	44
Figura 20	Média em µm da desmineralização do esmalte dos diferentes grupos experimentais.....	45
Figura 21	Média da dureza dos diferentes grupos experimentais	46
Figura 22	Fotografias representativas das áreas ablacionadas analisadas em MEV, em aumento de 500X. A- Grupo laser. B- Grupo L + F. C- Grupo F + L. D- Grupo F e L.....	48

Figura 23 Fotografias representativas das áreas sem alteração analisadas em MEV, em aumento de 500X. A- Grupo F. B- Área controle..... 49

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Média (µm), desvio padrão e mediana do desgaste superficial do esmalte após os diferentes tratamentos preventivos e desafio erosivo..... **43**

Tabela 2 - Média e desvio padrão em µm da lesão de desmineralização dos diferentes grupos estudados..... **45**

Tabela 3 - Média e desvio padrão da microdureza superficial dos grupos experimentais..... **46**

Tabela 4 - Percentual de variação, entre a área controle e experimental, dos íons presentes no esmalte dental após tratamento superficial (*)..... **47**

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

%	porcentagem
[$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$]	fluorapatita
<	menor
>	maior
µm	micrometro(s)
Å	ångström
Ca	cálcio
CaF_2	fluoreto de cálcio
CO_2	dióxido de carbono
DRX	difração de raio X
EDS	espectrometria de energia dispersiva de raio X
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
Er,Cr:YSGG	erbium, cromium: yttrium-scandium-galium-garnet
Er:YAG	Óxido de ítrio e alumínio ($Y_3Al_5O_{12}$) dopado com érbio (Er^3 +)
et al.	e colaboradores
F	flúor
FFA	fluoreto fosfatado acidulado
G	grupo
g/f	grama força
He-Ne	hélio-neônio
Hz	hertz
J/cm_2	joule por centímetro quadrado(s)

KHN	Knoop Hardness Number
kV	quilovolt(s)
M	molar
mA	miliampére
MEV	microscopia eletrônica de varredura
mJ/cm_2	mili Joule por centímetro quadrado(s)
ml	mililitro(s)
mm	milímetro(s)
n	número
NaF	fluoreto de sódio
Nd:YAG	óxido de ítrio e alumínio ($Y_3Al_5O_{12}$) dopado com neodímio (Nd^3 +)
O	oxigênio
^oC	grau(s) celsius
P	fosfato
pH	logaritmo negativo de concentração hidrogeniônica (-log[H^+])
W	watts

Sumário

1. ***Inrodução*** 20

2. ***Proposição*** 28

3. ***Material e Método*** 30

3.1. *Delineamento experimental* 31

3.2. *Obtenção dos espécimes* 31

3.3. *Preparo dos espécimes* 33

3.3.1. *Irradiação da superfície do espécime* 33

3.3.2. *Aplicação tópica do flúor* 34

3.4. *Desafio erosivo* 34

3.5. *Avaliação do desgaste* 35

3.6. *Microdureza superficial final* 36

3.7. *Microscopia óptica* 37

3.8. *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio X (EDS)* 37

3.10. *Análise dos resultados* 39

4. ***Resultados*** 42

4.1. ***Análise do desgaste superficial*** 43

4.2. ***Microscopia óptica*** 44

4.3. ***Microdureza superficial*** 46

4.4. ***EDS*** 47

4.5. ***Microscopia eletrônica de varredura*** 48

5. *Discussão* **.....** 50

6. *Conclusão* **.....** 61

Referências Bibliográficas **.....** 63

1 Introdução

1 Introdução

A prática odontológica atual preconiza medidas preventivas direcionadas ao controle da cárie dental, entretanto em função do desenvolvimento social, o maior acesso da população às informações de higiene bucal e a fluoretação da água, vem ocorrendo uma queda do índice de cárie e da perda de elementos dentais (Larsen; Brun, 1995; Cury, 2002), somando-se a este fato, o aumento da expectativa de vida da população vem proporcionando a observação cada vez mais freqüente de lesões dentais não cariosas (ten Cate; Imfeld, 1996).

Estas lesões não possuem o envolvimento de microrganismos, sendo ocasionadas por diversos fatores, atuando isoladamente ou associados. A abrasão (desgaste mecânico do dente por contato com outro material), a atrição (desgaste mecânico do dente por contato com outro dente), a erosão (desgaste causado por substâncias químicas) e a abfração (perda de estrutura dental devido à má oclusão) (Grippo, 1991) são os fatores causais deste tipo de lesão, todavia é difícil o diagnóstico diferencial destas lesões, devido aos dados clínicos e epidemiológicos inconclusivos e sua etiologia multifatorial envolvendo fatores dietéticos, comportamentais e biológico (Lussi et al., 2004).

Erosão dental é um termo utilizado para descrever os efeitos físicos de perda localizada, crônica e patológica de tecido mineral o qual é removido quimicamente da superfície do dente por meio de substância ácida ou quelante, sem o envolvimento de bactérias e de caráter irreversível (Eccles, 1979; Moss, 1998; Barron et al., 2003, Benages et al., 2006). Pode ser de origem intrínseca, causada pelo ácido clorídrico produzido no estômago e presente no suco gástrico o qual alcança a cavidade bucal e os dentes através do vômito ou regurgitação (Imfeld, 1996; Bartlett;Coward, 2001) ou pode ser de origem extrínseca, relacionada à ingestão de alimentos e bebidas ácidas, às substâncias químicas presentes no meio ambiente como as industrias químicas e as piscinas cloradas ou pelo uso de medicamentos como vitamina C e aspirina (ten Cate; Imfeld, 1996; Hefferren, 2004).

A dieta ácida é relatada como um potente causador da erosão dental (Gray et al.,1998; Meurman; Vesterinen, 2000) e pode ser considerada o principal fator causador desta lesão (Zero, 1996). A sociedade moderna adaptou-se a consumir bebidas com baixo pH, o que pode acarretar a desmineralização do substrato dental e perda de estrutura (ten Cate et al., 1995; Luo et al., 2005). Assim, o aumento do consumo de substâncias ácidas, em especial os refrigerantes, tem causado preocupação à classe odontológica quanto aos possíveis efeitos erosivos que podem causar às estruturas dentais (Shaw; Smith, 1999). O consumo diário de refrigerantes aumenta em 4 vezes o risco de erosão dental (Järvinen et al., 1991), cerca de 1µm de estrutura dental é perdida por dia em meio ao consumo excessivo (Sognnaes et al., 1972)

O pH da Coca-Cola, um dos refrigerantes mais consumidos, é considerado danoso aos tecidos dentais devido a sua acidez (pH de 2,29) (Grando et al., 1995; Fushida; Cury, 1999; Sobral et al., 2000). Em função do pH crítico do esmalte dentário ser aproximadamente de 5,5, qualquer solução com pH inferior à esse poderá iniciar o processo erosivo, especialmente se a exposição ao ácido for de longa duração e/ou repetir-se freqüentemente (Meurman; ten Cate, 1996; Johansson et al., 2004).

O potencial de erosão de uma bebida ácida depende das propriedades químicas e físicas (pH, níveis de cálcio, fosfato e flúor e aderência da substância erosiva na superfície dental). A concentração de cálcio, de fosfato e de flúor das bebidas, combinada com o valor de pH determinam o grau de saturação em relação ao esmalte e a dentina, o que guiará a dissolução dos mesmos. Soluções supersaturadas em relação ao esmalte e a dentina não causam a sua dissolução, já as soluções subsaturadas dão início ao processo de desmineralização (Ramalingam et al., 2005; Panich; Poolthong, 2009). Os períodos iniciais de contato da bebida ácida com o dente, cerca de 6 aos 10 primeiros minutos, são os mais críticos, pois após este período há o acúmulo de produtos da reação tornando o local saturado em relação aos minerais, diminuindo o processo erosivo (Grobler et al., 1989).

O valor do pH é importante, mas não é o único fator que interfere na erosão do esmalte e da dentina, a capacidade da solução ácida em manter a concentração

de íons hidroxila (H^+) em meio aos minerais dissolvidos do substrato dental e em meio à diluição pela saliva são fatores importantes (Larsen; Nyvad, 1999) e responsáveis por manter a dissolução do mineral por um longo período (Featherstone; Melberg, 1981). Sendo considerado um fator importante a ser utilizado como parâmetro para se avaliar o potencial erosivo de uma bebida ou alimento (Owens, 2007).

Frente à exposição ácida que o esmalte dental é submetido, ocorre a dissolução dos seus compostos minerais e são formadas áreas erodidas com perda de brilho e de aspecto liso. As lesões na superfície dos dentes são caracterizadas por lesões largas e rasas sem ângulo nítido, em formato de “U” (Levitch et al., 1994). No caso da erosão de origem extrínseca, as lesões localizam-se com maior freqüência na face vestibular do terço cervical dos dentes anteriores (Coleman; Nelson, 1996). A área cervical é normalmente a mais afetada em função da autolimpeza ser menos eficiente que em outras regiões e com isso o ácido permanece neste local por um período mais prolongado, o fato da saliva estar presente neste local em menor quantidade também propicia a ocorrência do processo, pois a mesma não atuará na normalização do pH (Eccles, 1979).

No caso de dentes restaurados, as restaurações tornam-se proeminentes, projetando-se acima da superfície dental. Quando acomete a dentina provoca sensibilidade ao frio, ao calor e à pressão osmótica (Levitch et al., 1994). A erosão dental pode ocasionar bordas incisais finas ou fraturadas, diastemas, pseudomordida aberta, exposição pulpar e perda da dimensão vertical, comprometendo a estética e a função (Pegoraro, 2000).

Em geral, o tratamento para os dentes com lesões erosivas envolve procedimentos restauradores diretos, porém, nos casos mais severos muitas vezes é necessário a realização de tratamento endodôntico e a reabilitação protética do paciente para o restabelecimento da função e da estética. Em contrapartida, a prevenção é o melhor caminho para se evitar esta injúria, sendo necessário orientar o paciente quanto às formas de controle do processo erosivo, instruindo-o a reduzir a ingestão de alimentos e bebidas ácidas e a evitar a higienização bucal logo após a exposição dental às substâncias ácidas (Rios et al., 2006; Magalhães et al., 2008).

A aplicação tópica de flúor é um tratamento tradicional na prevenção da desmineralização do substrato dental (Graubart et al., 1972; Bartlertt et al., 1994; Ganss et al., 2004; Willumsen et al., 2004; Arnold et al., 2006), aumentando a resistência do mesmo em relação às substâncias ácidas presentes nos alimentos e nas bebidas (Jensen et al., 1987), principalmente quando utilizado em altas concentrações (Rios et al., 2009). O principal mecanismo de ação do flúor deve-se à sua capacidade de interferir no processo dinâmico de desmineralização e remineralização dental durante as quedas de pH, de forma que o íon fluoreto se liga à hidroxiapatita desmineralizada formando um novo composto, a fluorapatita (Graubart et al., 1972; Bartlertt et al., 1994; Delbem; Cury, 2002; Ganss et al., 2004; Arnold et al., 2006).

A utilização da irradiação laser como método preventivo auxiliar ou mesmo como um método potencializador da aplicação tópica de flúor, tem sido estudada e demonstrado diminuir a desmineralização dental, além de propiciar maior retenção de flúor ao esmalte (Hicks et al., 1993; Blankenau et al., 1999; Pelino et al., 1999; Nammour et al., 2003). O uso do laser na prevenção à desmineralização foi sugerido por Stern e Sognnanes em 1964, utilizando o laser de rubi, porém seu uso não foi difundido devido ao excessivo aquecimento causado à estrutura dental levando ao comprometimento dos tecidos pulpar e periodontal. No entanto, com o avanço tecnológico outros lasers como, o CO_2, o Er:YAG, o Er–Cr:YSGG, o Nd:YAG, o He-Ne e o Argônio têm sido pesquisados e utilizados com o mesmo propósito, tendo demonstrado que quando utilizados sob baixos parâmetros não causam danos térmicos ao tecido dental (Nammour et al., 2005; Ana et al., 2006; Kato et al., 2006; Castellan et al., 2007; Rios et al., 2009; Steiner-Oliveira et al., 2010).

O laser Er:YAG por ser o mais popular e pioneiro dos lasers érbio a ser introduzido no mercado, foi o primeiro a ser aprovado para uso odontológico pela Food and Drug Administration (FDA), com o propósito de causar a ablação do tecido duro dental para realização de preparos cavitários (Bevilácqua, 2002). O primeiro trabalho realizado utilizando o laser Er:YAG sob altas fluências com a finalidade de diminuir a desmineralização dental em meio ácido remonta de 1990, reportando resultados positivos para estes fins (Nara et al., 1990). Entretanto, trabalhos

realizados posteriormente afirmam que o laser Er:YAG sob baixas fluências pode inibir em 40% a desmineralização do esmalte (Fried et al., 1996).

A interação do laser com o tecido dental depende dos parâmetros do mesmo, como o comprimento de onda, a emissão dos pulsos, a duração dos pulsos, a energia, a freqüência e os métodos de irradiação, mas também depende das propriedades ópticas do tecido irradiado como a capacidade de absorção, refração, difusão e reflexão, o que irá ditar os efeitos do laser sobre o tecido (Featherstone, 2000a; Aoki et al., 2004). A absorção é o fenômeno mais desejado, pois é através deste que a energia laser é transformada em calor sendo capaz de promover alterações dentais (Aoki et al., 2004).

O comprimento de onda de 2,94 µm do laser Er:YAG, situa-se na mesma área de absorção da água presente nos espaços interprismáticos do esmalte (Gimbel, 2000; Ceballos et al., 2002; Carmelingo et al., 2004), desta forma, a energia laser é fortemente absorvida pela água, levando ao rápido aquecimento destas moléculas à temperaturas superiores a 100 ^{o}C ocasionando o aumento da pressão e a microexpansão interna destas moléculas e, conseqüentemente, a ejeção do tecido duro dental adjacente (Seka et al., 1996). Este fenômeno denominado ablação, possibilita a execução de preparos cavitários, porém para fins preventivos o laser deve ser utilizado com parâmetros inferiores aos utilizados para ablação, já que para a prevenção não há a necessidade de perda de tecido dental (Apel et al., 2005).

Para que haja alterações químicas e morfológicas do esmalte dental, resultando na diminuição da solubilidade em meio ácido, a irradiação laser deve ser absorvida e convertida em calor sem causar danos térmicos ao tecido (Featherstone; Nelson, 1987). Em temperaturas superiores a 100 ^{o}C ocorre a evaporação da água, a decomposição da matriz orgânica, a conversão de fosfato em pirofosfato e o início da remoção de carbonato, sendo sua completa eliminação em temperaturas da ordem de 1100 ^{o}C (Fowler; Kuroda, 1986; Featherstone et al., 1997), em temperaturas superiores a 1100 ^{o}C há a formação de novas fases cristalinas, tais como α-tricálcio-fosfato e β-tricálcio-fosfato (Bachman et al., 2004). Entretanto estes novos compostos são mais solúveis quando comparado à hidroxiapatita, sendo sua formação indesejável para a prevenção do processo

erosivo (Featherstone et al., 1996; LeGeros, 1999). O laser Er:YAG nos parâmetros subablativos eleva a temperatura a 300 ^{o}C, promovendo a evaporação da água e perda de carbonato (Fried et al., 1996), sendo, teoricamente, a temperatura considerada ideal para induzir o aumento da resistência (Bevilácqua et al., 2008). Quando utilizado sob parâmetros no limiar da ablação a elevação da temperatura é da ordem de 400 ^{o}C (Fried et al., 1996).

Na literatura há muitas teorias que explicam o aumento da resistência ácida do esmalte após a irradiação laser, supõem-se que na superfície do esmalte dental irradiado formam-se áreas de fusão, recristalização e vitrificação (Martinez-Insua et al., 2000; Verlangieri, 2001; Ying et al., 2004) geradas pela rápida elevação da temperatura superficial, este processo levaria ao aumento do tamanho dos cristais de hidroxiapatita e, conseqüentemente, ao aumento da resistência ácida do esmalte dental (Ying et al., 2004; Messias et al., 2006). Outra hipótese, diz respeito à diminuição da permeabilidade da superfície do dente através da decomposição da matriz orgânica, acarretando o bloqueio dos espaços inter e intraprismáticos impedindo a difusão ácida (Hossain et al., 2000; Ying et al., 2004), a decomposição da matriz orgânica ocorre quando há a elevação da temperatura em torno de 300 a 400 ^{o}C (Hsu et al., 2000).

A associação da aplicação tópica de flúor e da irradiação laser tem sido relatada como tentativa de maximizar o efeito dos dois métodos (Tagliaferro et al., 2007; Rios et al., 2009; Zezell et al., 2009; Steiner-Oliveira et al., 2010), acredita-se que a irradiação laser causa alterações químicas e morfológicas no substrato dental (Tagliaferro et al., 2007; Esteves-Oliveira et al., 2009), gerando micro espaços que funcionam como reservatórios de fluoreto de cálcio (Gao et al., 2006), estes espaços são gerados em decorrência da perda de água e carbonato (Yokoyama et al., 2001). Há também a teoria de que no momento em há a fusão e a recristalização do substrato dental, o flúor presente na superfície seja incorporado na estrutura cristalina do dente formando a fluorapatita (Oho; Morioka, 1990).

A presença de fluoreto de cálcio na superfície dental é de grande importância, atuando no processo de remineralização através da formação da fluorapatita quando há queda do pH na superfície do esmalte (Strohmenger; Brambilla, 2001). O fluoreto

de cálcio pode ser perdido em meio bucal por troca, difusão e migração para a saliva (Featherstone, 2000), levando a uma redução do seu conteúdo em curto período de tempo, sendo assim é necessário realizar a reposição dos fluoretos regularmente, mantendo a reserva dental (Dijkman et al., 1983).

De modo geral, a irradiação laser tem demonstrado reduzir o pH crítico de dissolução do esmalte dental de 5,5 para 4,3 (Fox et al., 1992), entretanto, esta redução torna-se mais acentuada quando associada aos fluoretos (Oho; Morioka, 1990; Flaitz et al., 1995; Westerman et al., 1999; Anderson et al., 2000). Desta forma, torna-se pertinente avaliar a eficácia da irradiação laser Er:YAG associado ou não ao gel fluoretado, uma vez que, é crescente o consumo de bebidas ácidas e, conseqüentemente, o surgimento de lesões erosivas na superfície dental.

2 Proposição

2 Proposição

O objetivo do presente estudo foi avaliar a efetividade da irradiação laser Er:YAG associado ou não ao flúor na prevenção da erosão e analisar as possíveis alterações químicas e morfológicas causadas na superfície do esmalte através das seguintes análises:

- desgaste e microdureza superficial dos espécimes após tratamento superficial e desafio erosivo.
- área afetada pelo processo erosivo por meio microscopia óptica.
- alterações químicas do esmalte após os tratamentos superficiais por meio Espectrometria Dispersiva de Raio X.
- morfologia da superfície tratada através Microscopia Eletrônica de Varredura.

3 Material e Método

3 Material e Método

3.1 Delineamento Experimental

Neste estudo in vitro os espécimes foram submetidos ao desafio erosivo com refrigerante tipo cola. O fator em estudo foi o tratamento superficial em 5 níveis (irradiação laser Er:YAG; irradiação laser Er:YAG + aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA); aplicação do FFA + irradiação laser Er:YAG; aplicação do FFA e irradiação do laser Er:YAG simultaneamente; aplicação tópica do FFA). As variáveis de resposta quantitativa para a análise do efeito erosivo foi a porcentagem de perda de dureza superficial, a medida da desmineralização em microscopia ótica e o perfil de desgaste superficial. As variáveis qualitativas para a avaliação do efeito dos tratamentos preventivos sobre o esmalte dental foram a espectrometria de energia dispersiva de raio X (EDS) e microscopia eletrônica de varredura da superfície de esmalte.

3.2 Obtenção dos Espécimes

Foram empregados incisivos bovinos limpos (**Figura 1**) e armazenados em solução de formol a 2%, com pH 7,0. Os dentes com presença de trincas, rachaduras, manchas hipoplásicas ou acentuado desgaste foram descartados. Inicialmente, as raízes foram removidas com disco diamantado (#7015, KG

Sorensen, Barueri, 06454-920, Brazil) (**Figura 1**) em máquina de corte (Minitom, Struers A/S, Copenhagen, DK-2610, Denmark) (**Figura 2**) e em seguida as coroas foram fixadas em placa de acrílico para serem cortadas e assim obter os 95 espécimes de esmalte nas dimensões de 4x4mm (**Figura 1**). Em seguida, os fragmentos foram fixados em cilindros de resina acrílica para a realização da planificação e polimento em politriz Arotec APL-4 (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil), com lixa de óxido de alumínio de granulação #600 e #1200, disco de feltro e suspensão de alumina 0,3 e 0,05 µm (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil). Ao final do polimento os espécimes ficaram imersos sob ação do ultra-som (Ultrasonic Cleaner T – 1449 – D, Odontobrás Indústria e Comércio, Ribeirão Preto – SP, Brasil) por 10 minutos, em água deionizada para lavagem e remoção de resíduos.

Os espécimes que foram submetidos ao teste de microdureza passaram por uma seleção de microdureza inicial, na qual os mesmos foram fixados com cera escultura (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul – SP, Brasil) a uma base de acrílico, com o auxílio de um paralelômetro (ElQuip, São Carlos-SP, Brasil) (**Figura 3**) de forma a deixar a superfície de esmalte paralela à placa. Para a análise de microdureza inicial, foi utilizado o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation – Kyoto-Japan) (**Figura 4**) com penetrador diamantado piramidal tipo Knoop, com carga estática de 25 g/F, aplicada por 10 segundos. Foram realizadas, em cada amostra, cinco indentações sendo a primeira a 1mm de uma das bordas do fragmento e entre cada indentação foi deixado espaço de 500 µm (**Figura 5**), em seguida foi calculada a média de dureza de cada espécime, sendo desprezados aqueles que apresentaram valor 20% acima ou abaixo da média de todos os espécimes e também aqueles com desvio-padrão interno (entre as marcações) acima de 10% do valor de sua própria média.

3.3 Preparo dos Espécimes

Antes da realização dos tratamentos preventivos e do desafio erosivo, metade da superfície do esmalte dos espécimes foi isolada com duas camadas de esmalte cosmético (Colorama, Procosa Produtos de Beleza Ltda, São Paulo/SP, Brasil) e cera escultura (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul – SP, Brasil) (**Figura 6**), sendo esta a área controle (8mm^2), a outra metade exposta foi submetida a um dos tratamentos preventivos e ao desafio erosivo. Finalizada a impermeabilização dos espécimes de esmalte dental, os mesmos foram divididos aleatoriamente nos grupos experimentais de acordo com os tratamentos realizados.

- Grupo 1: irradiação laser
- Grupo 2: laser + flúor
- Grupo 3: flúor + laser
- Grupo 4: flúor e laser simultaneamente
- Grupo 5: aplicação flúor

3.3.1 Irradiação da superfície de esmalte

O laser utilizado neste estudo foi o Er:YAG (Kavo Key Laser 2, Kavo Co., Biberach – Alemanha) (**Figura 7**), o qual foi irradiado na superfície do esmalte de acordo com os seguintes parâmetros: comprimento de onda de 2,94 µm, potência de energia de 60 mJ/cm^2, freqüência de 2Hz, tempo de 10 segundos, sem refrigeração,

modo não-contato, focado e com distância entre a lente de saída do laser e o alvo de 4mm (Corrêa-Afonso et al., 2010).

3.3.2 Aplicação tópica do flúor

O flúor utilizado nesta pesquisa foi o flúor gel fluoreto fosfato acidulado 1,23% (DFL Indústria e Comércio S.A. Rio de Janeiro/RJ, Brasil) (**Figura 8**), o qual foi aplicado na superfície do esmalte com o auxílio de um microbrush (**Figura 9**), permanecendo em contato com a superfície de esmalte por um período de 4 minutos, em seguida o flúor foi removido com auxílio de gaze.

No grupo 2 o laser foi aplicado antes da aplicação tópica do flúor, no grupo 3 o laser foi aplicado após a remoção do flúor da superfície do esmalte. No grupo 4 o flúor foi aplicado na superfície do esmalte e após um minuto de ação sobre o mesmo foi irradiado o laser por 10 segundos, terminado o período da irradiação aguardou-se completar o período de 4 minutos para a remoção do flúor.

3.4 Desafio Erosivo

O desafio erosivo teve duração de 5 dias, para tanto os espécimes foram imersos em 20 ml de Coca-Cola® (**Figura 10**), à temperatura ambiente, 4 vezes ao dia pelo período de 1 minuto e sob agitação em máquina agitadora CT-155 (Cientec equipamentos para laboratório) (**Figura 11**). Nos intervalos dos desafios erosivos, os

espécimes eram lavados em água deionizada e armazenados em saliva artificial (Amaechi et al., 1999), em estufa à 37 ^{o}C (ECB 1.3 Digital, Odontobrás Ind. e Com. Equip. Med. Odontol. Ltda, Ribeirão Preto/SP, Brasil), sendo a saliva artificial trocada diariamente.

3.5 Avaliação do Desgaste

Para a análise do desgaste, foram utilizados 70 espécimes de esmalte dental (n=14), os quais foram distribuídos nos 5 grupos experimentais descritos acima. Assim, finalizados os tratamentos preventivos e o desafio erosivo, o esmalte cosmético e a cera escultura foram removidos delicadamente com auxílio de uma lâmina de bisturi expondo a área controle (não tratada).

O desgaste da superfície do esmalte foi avaliado a partir de um Rugosímetro Hommel Tester T 1000 (Hommelwerke, Gmbh, Alte Tuttinger Strebe 20.D-7730 VS-Schwenningen) (**Figura 12**), por meio de uma ponta apalpadora esférica que percorre a superfície, acoplada a uma unidade que tem a função de processar e interagir as informações quantitativamente. O perfil traçado pelo rugosímetro percorreu a superfície dos espécimes passando por áreas de esmalte hígido (controle) e áreas submetidas aos diferentes tratamentos/erodida, sendo realizada 10 leituras em cada espécime para a obtenção das medidas de desgaste. Assim sendo, após a determinação do perfil, a medida de desgaste foi obtida pela distância em micrometros entre a linha média do gráfico (referente à área controle) e a linha de desgaste (área tratada/erodida).

3.6 Microdureza Superficial Final

Após a análise do perfil de desgaste, os 70 espécimes foram analisados quanto à dureza superficial final. Para tanto, os mesmos foram fixados em um bloco de resina de poliéster Milflex® (Milflex General Tintas e Vernizes Ltda., São Paulo/SP, Brasil) (**Figura 13**) através da utilização de uma matriz de silicona (**Figura 14**), em seguida os espécimes foram seccionados ao meio, por meio de uma máquina de corte (**Figura 2**) (Minitom, Struers A/S, Copenhagen, DK-2610, Denmark) e disco diamantado (#7015, KG Sorensen, Barueri, 06454-920, Brazil). A porção a ser avaliada foi preparada através do processo de planificação e polimento com lixa d'água de granulação #600 e #1200 e disco de feltro (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil) e suspensão de alumina 0,3 e 0,05 µm (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil), todo o processo de planificação e polimento foi realizado em politriz Arotec APL-4 (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil).

Os blocos de resina contendo os espécimes foram limpos em ultrassom por 10 minutos, em água deionizada antes da análise da microdureza. Para a realização da microdureza os blocos de resina contendo os espécimes, foram fixados com cera pegajosa (Cera Rosa 7, Polidental Industria e Comércio Ltda., São Paulo – SP, Brasil) a uma base de acrílico com o auxílio de um paralelômetro (ElQuip, São Carlos-SP, Brasil) (**Figura 3**), de forma a deixar a superfície a ser analisada paralela à placa, o que é essencial para a realização das medidas de dureza.

Para a análise da microdureza superficial, foi utilizado o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation – Kyoto-Japan) (**Figura 4**) com penetrador diamantado piramidal tipo Knoop (KHN), com carga estática de 25 gf, aplicada por 10 segundos. Foi realizada, em cada amostra, doze indentações do lado erodido e doze do lado controle, sendo realizadas 4 indentação em cada distância (30, 60, 120 e 300 µm de distância da borda do espécime) (**Figura 15**), em seguida foi calculada a média dos dados.

3.7 Microscopia Óptica

Após as análises de dureza e desgaste, os 70 espécimes contidos no bloco de resina foram seccionados em máquina de corte (Minitom, Struers A/S, Copenhagen, DK-2610, Denmark) (**Figura 2**) por meio de um disco diamantado (#7015, KG Sorensen, Barueri, 06454-920, Brazil), a fim de obter 3 cortes por unidade experimental, os quais foram polidos com lixa de óxido de alumínio de granulação #600 e #1200 até atingir a espessura de 150 µm. Ao final desses procedimentos, os fragmentos de esmalte foram lavados e imersos em banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner T – 1449 – D, Odontobrás Indústria e Comércio, Ribeirão Preto – SP, Brasil) com água deionizada, para remoção de eventuais resíduos dos agentes abrasivos.

A análise da microscopia foi realizada por meio de um microscópio óptico (Axiostar Plus, Carl Zeiss, Alemanha) (**Figura 16**), ao qual foi acoplada uma câmera fotográfica digital (Sony Cyber-shot DSC-S75, Japão) (**Figura 16).** As imagens foram capturadas, digitalizadas para análise e com auxilio do software Axion Vision® LE 4.3 (Carl Zeiss, Alemanha) foram realizadas em cada secção cinco mensurações, expressa em micrometros da área desmineralizada (**Figura 17**). A média desses cinco valores representou a erosão que o esmalte sofreu em cada secção.

3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio X (EDS)

Para as variáveis de resposta MEV e EDS, 25 espécimes de esmalte (4x4mm) foram avaliados. Para tanto, a obtenção e a impermeabilização da metade

da superfície de cada espécime (área controle) (**Figura 6**) foi realizada seguindo o protocolo descrito anteriormente. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 5 grupos (n=5) de acordo com os tratamentos realizados: G 1 - laser Er:YAG; G 2 - laser + flúor; G 3 - flúor + laser; G 4 - laser simultaneamente flúor; G 5 - flúor.

Após a realização dos tratamentos, os espécimes foram preparados no interior de uma capela de acordo com o seguinte protocolo:

- aplicação de gel de EDTA por 1 minuto;
- lavagem abundante com spray ar/água destilada;
- limpeza em ultra-som (Ultrasonic Cleaner T – 1449 – D, Odontobrás Indústria e Comércio, Ribeirão Preto – SP, Brasil) em 2 ciclos de 5 minutos em água deionizada, sendo os espécimes lavados em água deionizada entre os dois ciclos ;
- desidratação dos espécimes através da embebição dos mesmos em diferentes concentrações de etanol (Labsynth Ltda., Diadema, SP, Brasil) por um período pré-determinado (25% por 20 minutos, 50% por 20 minutos, 75% por 20 minutos, 90% por 30 minutos e 100% por 1hora).

Para a análise das superfícies de esmalte dos espécimes em MEV e EDS (Philips- FEG, Laboratório de Caracterização Estrutural do DEMa – LCE – DEMa / UFsCAr-SP, Brasil), os espécimes foram fixados em *stubs* com fita adesiva de carbono dupla-face (Electron Microscopy Sciences, Washington, EUA) e a cobertura com ouro foi realizada em aparelho de metalização a vácuo (SDC 050, Bal-Tec AG, Foehrenwg 16, Balzers, Alemanha) (**Figura 18**). Foi realizada a varredura de toda a superfície do espécime e, em seguida, foi fotografada a área mais representativa de cada grupo nos aumentos de 500, 1.000 e 1.500 vezes.

A análise EDS foi realizada no aumento de 500 vezes, buscando quantificar o flúor, o cálcio e o fosfato existentes na superfície do esmalte.

3.9 Análise dos dados

Para a análise do desgaste superficial, os dados não apresentaram distribuição normal e homogênea, dessa forma, a comparação entre os grupos foi realizada através do método estatístico não-paramétrico de Kruskal- Wallis ($p<0,05$).

Para as análises da microdureza superficial e microscopia óptica, os dados foram analisados quanto à homogeneidade e normalidade, uma vez que, se apresentaram normais e homogêneos optou-se em empregar Análise de Variância a 1 Critério. Para os resultados obtidos nos testes de MEV e EDS foi realizada a análise descritiva dos dados.

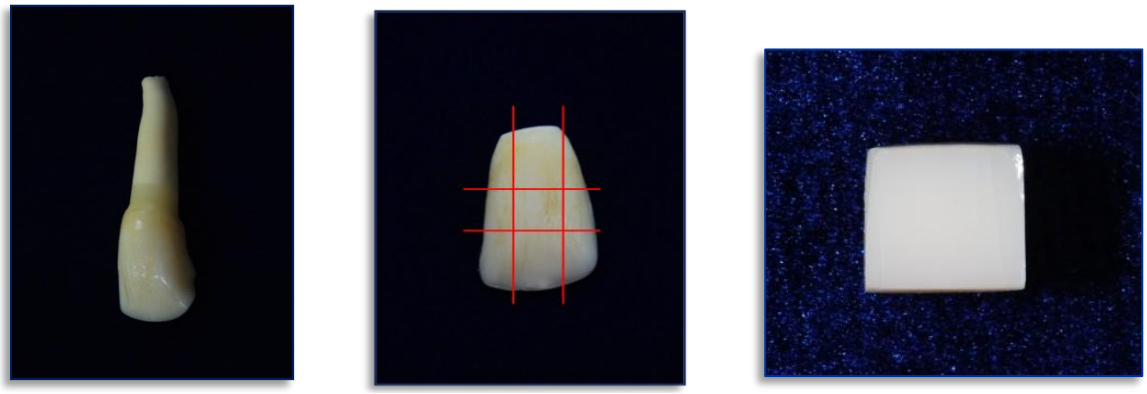

Figura 1: Obtenção dos espécimes – A) Incisivo bovino. B) Coroa separada da raiz, ilustrando os cortes que foram realizados. C) Espécimes obtido após os cortes.

Figura 2: Máquina de corte

Figura 3: Paralelômetro

Figura 4: Microdurômetro

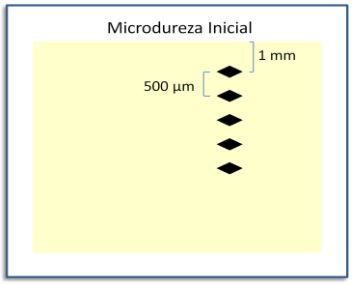

Figura 5: Espécime com as indentações

Figura 6: Espécime impermeabilizado

Figura 7: Laser Er:YAG

Figura 8: Fluoreto fosfatado acidulado

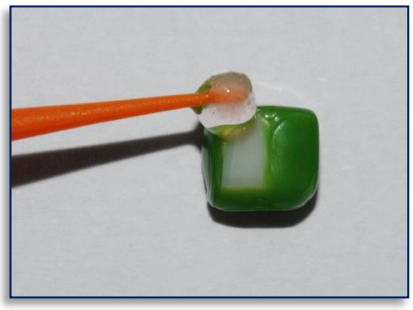

Figura 9: Aplicação do flúor sobre o espécime

Figura 10: Desafio erosivo em Coca-Cola

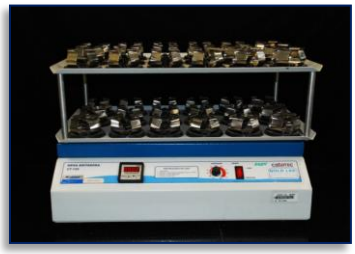

Figura 11: Máquina agitadora

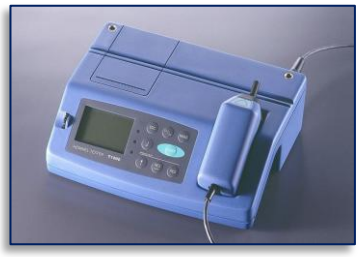

Figura 12: Rugosímetro

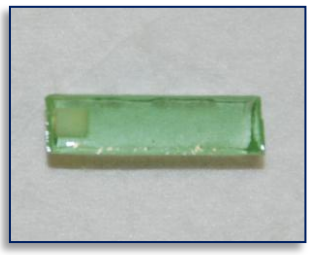

Figura 13: Espécime incluído em resina

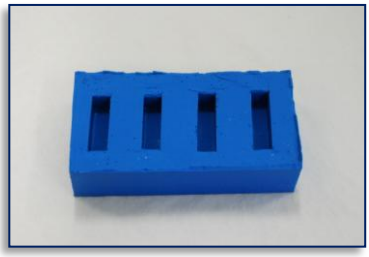

Figura 14: Matriz de silicona

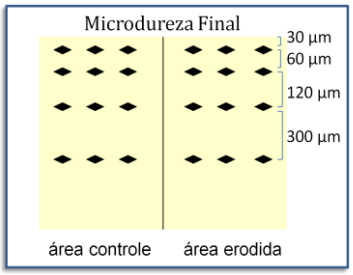

Figura 15: Indentações no espécime

Figura 16: Microscópio óptico

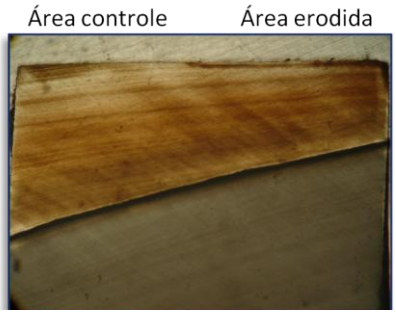

Figura 17: Microscopia óptica

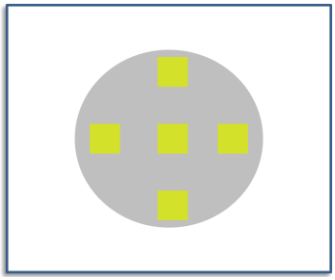

Figura 18: Stubs contendo os espécimes

4 Resultados

4 Resultados

4.1 Análise do Desgaste Superficial

A Tabela 1 mostra as médias (µm), desvio padrão e a mediana do desgaste dos grupos experimentais.

Na análise dos dados pode-se observar que os grupos 4 e 5, ou seja, aplicação tópica de flúor simultaneamente a irradiação com laser Er:YAG e apenas aplicação tópica de flúor respectivamente, apresentaram o menor desgaste e estatisticamente diferente ($p<0.05$) dos grupos 2 e 3. O grupo 1 (apenas irradiação a laser) foi semelhante ao grupo 4.

O emprego do laser antes ou após a aplicação do flúor promoveu um aumento significativo da erosão em comparação ao controle (flúor aplicado isoladamente).

Tabela 1: Média (µm), desvio padrão e mediana do desgaste superficial do esmalte após os diferentes tratamentos preventivos e desafio erosivo.

Grupo	Média (µm)	Desvio Padrão	Median	
1	1,57	1,37	0.87	bc
2	2,08	0,77	2.24	c
3	2,53	0,51	2.56	c
4	0,70	0,21	0.78	ab
5	0,73	0,16	0.72	a

Box Plot

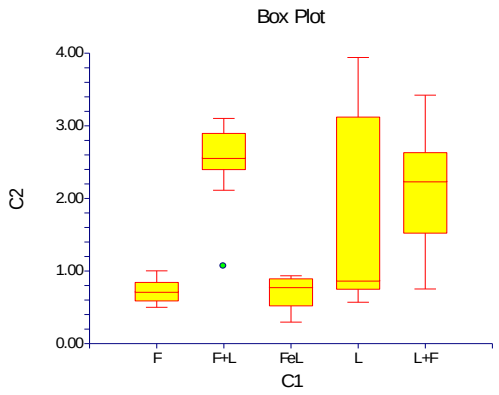

Figura 19: Box Plot da dispersão dos dados, média, mediana e desvio padrão para os diferentes grupos

4.2 Microscopia Óptica

Na microscopia óptica avaliou-se a medida em micrometros da desmineralização da área tratada/erodida em relação à área controle dos grupos experimentais. A **Tabela 2** apresenta a média e desvio padrão da área desmineralizada do esmalte, pode-se observar que os grupos 3 e 4, flúor posteriormente laser e flúor simultaneamente laser respectivamente, apresentaram menor grau de desmineralização e estatisticamente diferentes dos demais grupos ($p<0,05$), os quais apresentaram maiores valores de desmineralização e estatisticamente semelhantes entre si ($p>0,05$) (**Figura 20**).

Tabela 2: Média e desvio padrão em µm da lesão de desmineralização dos diferentes grupos estudados.

Grupos	Média (µm)	Desvio Padrão
L	20,67	11,70
L + F	18,25	6,63
F + L	9,10	5,2
F e L	7,11	5,3
F	21,39	13,15

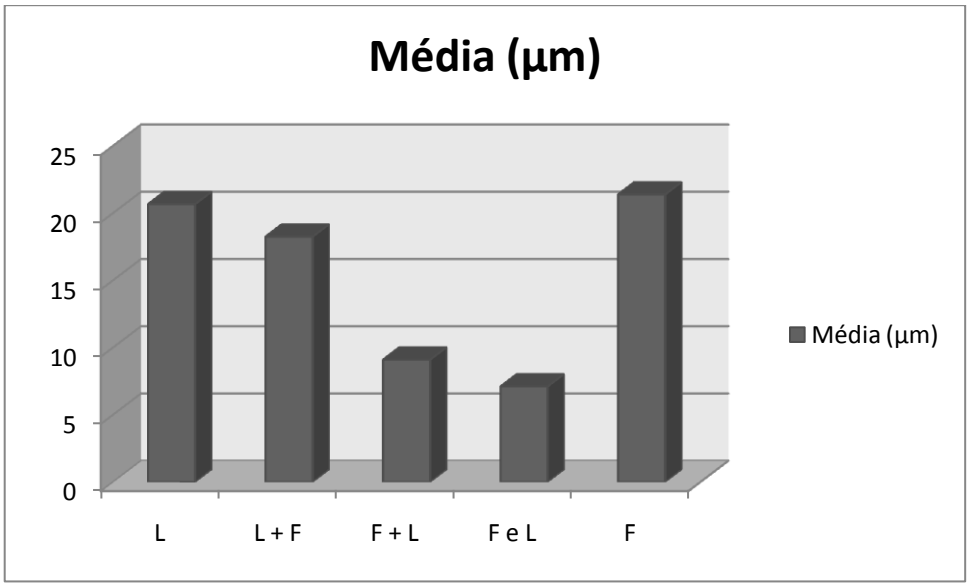

Figura 20: Média em µm da desmineralização do esmalte dos diferentes grupos experimentais.

4.3 Microdureza Superficial

A análise da microdureza superficial foi realizada comparando os grupos internamente, em relação à área controle e à área tratada/erodida e posteriormente foi realizada a comparação entre os grupos. A **Tabela 3** apresenta a média e o desvio padrão dos grupos experimentais. Pode-se observar que não houve diferença estatística significante (p>0,05) entre os grupos (**Figura 21**).

Tabela 3: Média e desvio padrão da microdureza superficial dos grupos experimentais.

Grupos	Média	Desvio Padrão
C	89,9	6
L	102,96	4,7
L + F	97,49	4,0
F + L	96,72	4,7
F e L	93,98	4,2
F	95,02	4,2

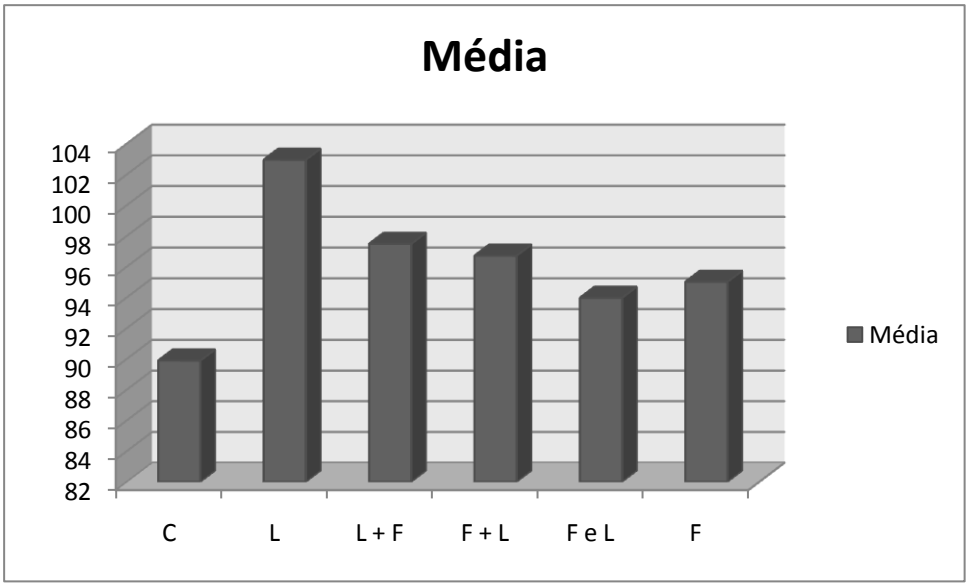

Figura 21: Média da dureza dos diferentes grupos experimentais.

4.4 EDS

Na análise descritiva dos dados (**Tabela 4)** pode-se observar que houve aumento de 174% do conteúdo do flúor no grupo 4 (laser simultaneamente à aplicação do flúor), seguido pelo grupo 5 (F) e 3 (F + L), os quais levaram a um aumento do conteúdo de flúor de 27% e 10% respectivamente. O grupo 1 (L) e 2 (L+F) apresentaram diminuição do conteúdo de flúor de 39% e 7,5%, respectivamente. Em relação aos outros íons verificou-se que houve uma diminuição variando de 6 a 14% do conteúdo de fósforo e de 0,2 a 8% do conteúdo de cálcio para todos os grupos, exceto para o grupo 2 (L+F).

Tabela 4: Percentual de variação, entre área controle e experimental, dos íons presente no esmalte dental após tratamento superficial (*).

	L	L + F	F + L	F e L	F
F	**39,44**	**7,47**	**-10,29**	**-174,34**	**-27,02**
Ca	**1,65**	**-1,06**	**7,35**	**8,21**	**0,19**
O	**-9,33**	**-3,18**	**-13,76**	**-0,92**	**2,74**
P	**6,44**	**8,07**	**12,18**	**14,45**	**0,68**

*O sinal negativo indica que ocorreu um aumento na quantidade do elemento na área tratada, o número positivo indica que ocorreu uma diminuição na quantidade do elemento na área tratada.

4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na análise das fotografias da MEV, observou-se áreas com imagens semelhantes à ablação em todos os espécimes irradiados com o laser Er:YAG independentemente da associação ou não do mesmo com o flúor (**Figura 22**). Para os espécimes tratados apenas com o flúor gel acidulado, não observou-se nenhuma alteração da superfície do esmalte em relação à área controle (**Figura 23**)

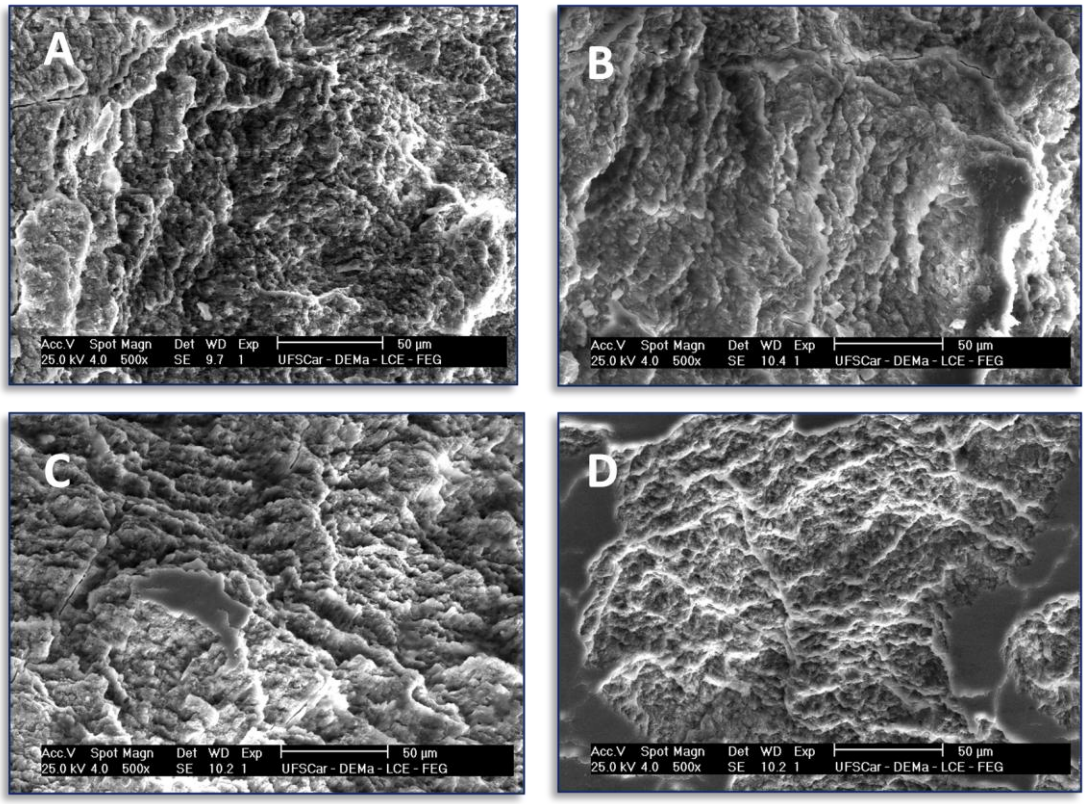

Figura 22: Fotografias representativas das áreas ablacionadas analisadas em MEV, em aumento de 500X. A- Grupo laser. B- Grupo L + F. C- Grupo F + L. D- Grupo F e L.

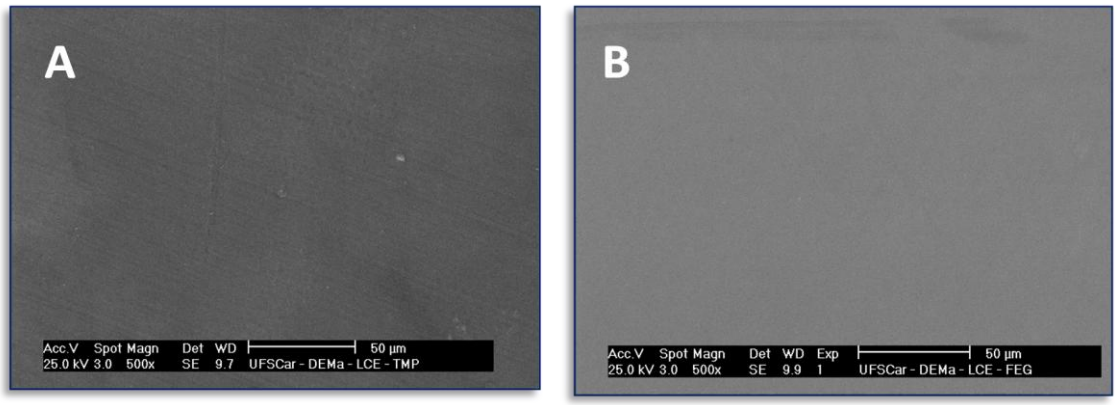

Figura 23: Fotografias representativas das áreas sem alteração analisadas em MEV, em aumento de 500X. A- Grupo F. B- Área controle.

5 Discussão

5 Discussão

A erosão dental é causada pela ação química de substâncias ácidas sobre o dente, levando à desmineralização da superfície e perda de estrutura. Ocorre quando um ácido forte ou fraco entra em contato com a água (H_2O) liberando íons hidrogênio (H^+) na cavidade bucal, estes íons se ligam rapidamente ao carbonato ou ao fosfato que compõem a hidroxiapatita, iniciando o processo de desmineralização da superfície do esmalte (Featherstone; Lussi, 2006).

Nos últimos anos vem aumentando a incidência de erosão dentária em função dos hábitos alimentares e de distúrbios que podem promover um aumento da acidez na cavidade bucal. A erosão dental pode ocorrer por fatores extrínsecos e intrínsecos. Os fatores extrínsecos são a dieta ácida como a ingestão de frutas cítricas, de bebidas ácidas e refrigerantes, pelo uso de medicamentos e por fatores do meio ambiente como indústrias químicas e piscinas cloradas. Os fatores intrínsecos são a xerostomia, a anorexia nervosa, a bulimia e a Doença do Refluxo Gastroesofágico, sendo o agravante desta doença a regurgitação de suco gástrico (Benages et al., 2006), composto principalmente por HCl e pepsina (Vaezi et al., 1995).

Dentre os fatores intrínseco tem-se o consumo exagerado de bebidas ácidas, principalmente de refrigerantes a base de cola. Dessa forma, optou-se neste estudo o emprego da Coca-Cola, pois se trata de uma bebida largamente consumida pela população mundial (Attin et al., 2003) e que possui potencial erosivo comprovado em vários estudos (Larsen et al., 1999; Attin et al., 2005, Ehlen et al., 2008; Cheng et al., 2009; Panich; Poolthong, 2009). Os refrigerantes a base de cola se caracterizam por possuir baixa concentração de cálcio e flúor, apresentam valores de pH inferiores aos sucos de frutas, cerca de 2,29 (Owens, 2007) e possuem em sua composição cerca de 0,1% de ácido fosfórico. Os refrigerantes fosfatados são danosos à superfície dental, porém são menos erosivos e mais susceptível a alteração do pH (baixa capacidade tampão) em relação ao ácido cítrico presente em outros refrigerantes (West et al., 2001; Lussi et al., 2004, Owens, 2007).

O potencial erosivo de uma bebida depende das propriedades químicas e físicas, do pH, dos níveis de cálcio, fosfato, flúor e da aderência desta substância ao substrato dental. A capacidade tampão de um ácido é um importante fator que interfere no processo erosivo do esmalte, trata-se da capacidade da solução ácida em manter a concentração de íons hidrogênio (H^+) em meio aos minerais dissolvidos do substrato dental e em meio à diluição causada pela saliva (Larsen; Nyvad, 1999) sendo que quanto maior a capacidade tampão maior a sua ação erosiva (Featherstone; Melberg, 1981).

A concentração de cálcio, fosfato e flúor das bebidas, combinada com o valor de pH determinam o grau de saturação em relação ao esmalte e a dentina, o que guiará a dissolução dos mesmos. Soluções supersaturadas em relação ao esmalte e dentina não causarão a desmineralização dos mesmos, porém soluções subsaturadas darão início ao processo erosivo (Ramalingam et al., 2005; Panich, Poolthong, 2009). Estudos realizados acrescentando cálcio, fosfato e flúor aos refrigerantes demonstraram causar a diminuição da perda de minerais pelo esmalte dental (Margolis et al., 1986; Lussi et al., 2004), entretanto estudos realizados com a Coca-Cola não foi observada tal redução (Attin et al., 2005). Estudos recentes realizados utilizando a Coca-Cola demonstraram o potencial erosivo desta bebida (Ehlen et al., 2008), a qual foi capaz de causar a diminuição da dureza dos espécimes (Panich; Poolthong, 2009), sendo comprovado clinicamente por Cheng et al. (2009) em que verificaram que o consumo excessivo deste refrigerante associado à má higiene bucal pode causar erosão dental e cárie.

Após o processo de erosão e o equilíbrio do pH na superfície do esmalte, inicia-se o processo de remineralização do substrato dental por meio do cálcio e do fosfato provenientes da saliva ou do íon flúor, quando estão presentes em quantidade suficiente para formar uma nova superfície remineralizada (ten Cate; Featherstone, 1991; Featherstone; Lussi, 2006). A saliva é um importante agente contra a erosão dental, além de diluir os ácidos na superfície e fornecer cálcio e fosfato que atuam na remineralização, também atua na formação da película adquirida (Meurman; Frank, 1991; Hannig; Balz, 1999). Esta camada se adere sobre a superfície dental protegendo-a dos efeitos erosivos dos ácidos por um período de tempo, entretanto a película adquirida é removida após certo período de

exposição ao ácido e perde sua capacidade protetora (Hannig; Balz, 1999, 2001). Estudos demonstraram que 1 hora de exposição do esmalte em saliva é suficiente para garantir a proteção do mesmo (Wetton et al., 2006), sendo suficiente para remineralizar e recuperar a força mecânica (Attin et al., 2000; Amaechi; Higham, 2001). Dessa maneira, no presente estudo optou-se no emprego da saliva artificial que foi utilizada nos intervalos dos desafios erosivos sendo esta trocada diariamente.

As terapias com flúor como método de prevenção à desmineralização dental ocasionada por ácidos de origem bacteriana ou oriundos da dieta, são bem conhecidas e relatadas por diversos pesquisadores (Ren et al., 2009; Ganss et al., 2010; Tenuda; Cury, 2010). O flúor pode estar presente no esmalte sob duas formas: flúor fracamente ligado, representado pelos cristais de fluoreto de cálcio (CaF_2) e flúor fortemente ligado sob a forma de fluorapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$] (Cury, 2002; Ferjeskov; Kidd, 2005). O flúor fortemente ligado não pode ser extraído a menos que haja a dissolução do cristal por meio de uma substância ácida (Larsen; Brun, 1995), já o cristal de fluoreto de cálcio é o responsável pelo potencial cariostático dos produtos fluoretados, graças à sua lenta dissolução e sua prolongada retenção na superfície dental, atua como um reservatório de flúor frente às quedas bruscas de pH em meio bucal (Strohmenger; Brambilla, 2001).

O fluoreto de cálcio é depositado sobre o esmalte dental quando há pelo menos 100ppm de flúor na solução tópica (Ferjeskov; Kidd, 2005), o que ocorre facilmente com os produtos tópicos de uso profissional e dentifrícios contendo fluoreto de sódio (NaF), sendo assim, a formação deste composto é potencializada quanto maior for a concentração de flúor (Featherstone, 1999). O produto fluoretado utilizado neste estudo foi o fluoreto fosfatado acidulado, pois o mesmo apresenta bons resultados na formação de fluoreto de cálcio devido a alta concentração de flúor em sua composição e sua acidez causa a uma leve dissolução do esmalte superficial disponibilizando maior quantidade de cálcio para a formação do fluoreto de cálcio (CaF_2) (Ferjeskov; Kidd, 2005). Entretanto, o fluoreto de cálcio pode ser perdido em meio bucal por troca, difusão e migração para a saliva (Featherstone, 2000b), levando a uma redução do seu conteúdo em um curto período de tempo,

sendo importante a aplicação tópica de flúor freqüente para modificar as propriedades do esmalte e manter as taxas de flúor em meio bucal (Cury, 2002).

O mecanismo de ação do flúor no processo de desmineralização está na presença do mesmo na forma de fluoreto de cálcio (CaF_2) na superfície dental durante a queda do pH (Featherstone, 2000b), dando origem ao cristal de fluorapatita, o qual se caracteriza por ser um cristal maior, menos solúveis e mais estáveis que a hidroxiapatita (LeGeros, 1999). O maior efeito preventivo é obtido quando o flúor é incorporado na forma de fluorapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$], para a obtenção da mesma é necessário que durante o processo de remineralização o flúor esteja presente em pequenas quantidades, cerca de 50 ppm, para que os íons cálcio dos cristais de hidroxiapatita carbonatada parcialmente dissolvidos atraiam os íons fluoreto formando um novo composto (Featherstone et al., 1983; LeGeros, 1991; Featherstone, 1999).

Além do método tradicional de aplicação tópica de flúor sobre o esmalte, a irradiação laser também vem sendo estudada como método preventivo à desmineralização. Stern e Sognnaes (1964) foram os primeiros autores a sugerirem que o laser possui capacidade de aumentar a resistência ácida do esmalte dental, desde então a irradiação laser tem se mostrado capaz de promover alterações na microestrutura do esmalte e da dentina de forma que estes se tornem mais resistentes às quedas de pH (Featherstone; Nelson, 1987), ou mesmo capaz de potencializar a ação das terapias convencionais, representadas principalmente pela ação do íon fluoreto (Hicks et al., 2004). Muitos trabalhos vêm sendo realizados com o intuito de prevenir a desmineralização ácida e os diversos tipos de laser há anos são relatados como um auxiliar no combate à desmineralização (Ying et al., 2004; Ana et al., 2006; Tagliaferro et al., 2007; Freitas et al., 2008). Porém, para que haja a indução de alterações químicas e morfológicas no esmalte a irradiação deverá ser altamente absorvida pelo tecido e transformada em calor, sem causar injúrias aos tecidos moles adjacentes e à polpa (Stern; Sognnaes, 1972; Featherstone; Nelson, 1987, Oho; Morioka, 1990).

O laser Er:YAG é fortemente absorvido pela água contida no esmalte dental, pois seu comprimento de onda de 2,94 µm coincide com o pico de absorção da água

que é de 3 µm (Ceballos et al., 2000; Carmelingo et al., 2004; Korytnicki et al., 2006), sendo possível causar a ablação do esmalte através da microexpansão das moléculas de água e a ejeção do tecido duro dental (Seka et al., 1996). Porém, para os fins preventivos o laser deve ser utilizado com uma densidade de energia inferior a utilizada para ablação, já que para a prevenção não há a necessidade de perda de tecido dental (Apel et al., 2005), e sim de alteração química e morfológica capaz de aumentar a resistência à desmineralização. Na literatura não há um consenso sobre o limiar de ablação do laser Er:YAG, são sugeridas densidades de energia de 7.2 J/cm2 e 5Hz, de 18.6 J/cm2 e 2Hz (Li et al., 1992), de 7 J/cm2 (Fried et al., 1996), de 9 a 11J/cm2 (Apel et al., 2004) e de 0.9 a 2.08 J/cm2 (Bevilácqua et al., 2008) para que se evite danos mecânicos ao esmalte.

Sabe-se que a camada de água sobre a superfície dental é um fator importante para a ação do laser Er:YAG, pois aumenta a interação do laser com o tecido dental e, conseqüentemente, aumenta o efeito ablativo (Burkers et al., 1992; Seka et al., 1996; Hossain et al., 2000; Fried et al., 2002), entretanto há relatos na literatura de que na ausência da água o efeito do laser na prevenção da desmineralização é maior (Morioka et al., 1991; Young et al., 2000; Apel et al., 2003; Bevilácqua et al., 2008), sendo assim o presente estudo foi realizado sem refrigeração ar-água durante as irradiações. Entretanto, baseado nas imagens da microscopia eletrônica de varredura podemos notar que mesmo utilizando parâmetros subablativos de 60 mJ/cm2 e 2Hz, houve a formação de áreas irregulares de perda de estrutura, com exposição dos prismas de esmalte, semelhantes à áreas ablacionadas, nos grupos irradiados com laser Er:YAG. A área controle e com o grupo em que foi aplicado apenas o flúor não foi observada nenhuma alteração da superfície, este ocorrido pode estar associado ao fato do laser ter sido utilizado sem a presença de refrigeração, uma vez que, na ausência da água na superfície dental toda a energia aplicada foi absorvida pelo esmalte levando ao superaquecimento e ao processo de ablação.

Outra hipótese está associada à aplicação do laser Er:YAG ser realizada manualmente, favorecendo a sobreposição dos pulsos laser, este fato amplificaria o efeito sobre a superfície irradiada e aumentaria o potencial ablativo, esta sobreposição dos pulsos também pode gerar áreas na superfície não irradiadas

(Freitas, 2005; Ana, 2007). As alterações morfológicas decorrentes da irradiação laser são clinicamente indesejáveis, pois as áreas ablacionadas apresentam maior rugosidade e são consideradas possíveis sítios de retenção de placa bacteriana, além do comprometimento estético (Quirynen; Bollen, 1995, Bevilácqua, 2002). Entretanto, recentemente um estudo realizado utilizando laser Nd:YAG demonstrou que a quantidade de biofilme formada sobre áreas irradiadas não diferem das áreas não irradiadas (Korytnicki et al., 2006).

Estudos associando o laser e o flúor há anos vem sendo realizados, acredita-se que haja uma interação de sinergismo entre ambos (Tagomori; Morioka, 1989; Hossain et al., 2002), na qual passa a haver maior retenção e incorporação de flúor pelo substrato dental, além de estabelecer ligações mais efetivas do flúor com o esmalte, favorecendo o efeito cariostático do flúor a longo prazo (Flaitz et al., 1995; Hsu et al., 1998; Tepper et al., 2004).

Esta associação tem demonstrado aumentar a resistência ácida do esmalte e da dentina quando comparado com a aplicação tópica de flúor ou a irradiação laser utilizados isoladamente (Fox et al., 1992; Meurman et al., 1997; Phan et al., 1999; Nammour et al., 2005, Castellan et al., 2007, Zezell et al., 2009), uma vez que, o pH crítico de dissolução do esmalte é 5,5 e após a irradiação laser passa a ser de 4,3, sendo que na presença de no mínimo 0.1 ppm de flúor o pH crítico pode ser menor ainda (Fox et al., 1992). Esta associação entre laser e flúor parece ser um recurso preventivo bem sucedido em indivíduos com alto risco de desmineralização dental.

Embora muitos estudos estejam sendo realizados associando a irradiação laser e a aplicação tópica do flúor, não há relatos de estudos onde a irradiação laser foi realizada simultaneamente à aplicação tópica do flúor (FFA), sendo assim, o presente estudo associou o laser Er:YAG e o flúor tópico de várias maneiras, inclusive aplicados simultaneamente. Estudos realizados com o laser Er:YAG sob baixas fluências, demonstraram o aumento da resistência ácida quando irradiado após a aplicação do flúor, quando comparado ao grupo em que o flúor foi aplicado isoladamente (Apel et al., 2002; Bevilácqua et al., 2008). Estudos realizados com o laser Nd:YAG irradiado antes ou após a aplicação tópica de flúor também demonstraram aumentar a resistência à desmineralização em relação aos grupos

onde foi aplicado o flúor ou irradiado o laser separadamente (Rios et al., 2009; Sobral et al., 2009).

Entretanto, estes resultados são contrários aos do presente estudo, pois nas análises de desgaste e de microscopia óptica o laser Er:YAG irradiado simultaneamente à aplicação do FFA (F e L) foi a única forma de associação entre laser e flúor que demonstrou melhores resultados na diminuição da desmineralização apresentando similaridade ao grupo do flúor. Exceto na análise da microscopia óptica em que o grupo F + L apresentou menor desmineralização se igualando ao grupo F e L. Corroborando com estes resultados, estudos realizados com o laser Er,Cr:YSGG (Apel et al., 2002), CO_2 (Steiner-Oliveira et al., 2010) e Nd:YAG (Magalhães et al., 2008) demonstraram que o tratamento isolado com o laser não promoveu aumento da resistência ácida e quando associado ao flúor os resultados foram semelhantes ao grupo em que foi aplicado apenas o flúor.

São muitas as teorias para a interação entre o flúor e o laser, mas não há um consenso entre os autores. A aplicação tópica de flúor fosfato acidulado promove a dissolução da camada mais solúvel de cristais de apatita e uma grande quantidade de fluoreto de cálcio (CaF_2) é depositada na superfície dental (ten Cate; Featherstone, 1991), supõem-se que a irradiação laser eleva a temperatura superficial do esmalte a tal ponto que leva à fusão, seguida pela recristalização do esmalte quando há a diminuição da temperatura e que durante este processo o fluoreto de cálcio ali presente é incorporado à estrutura do esmalte, formando a fluorapatita no momento do rearranjo (Goodman; Kaufman, 1977; Meurman et al., 1997; Phan et al., 1999).

Entretanto, para que se obtenha a fusão e recristalização do esmalte é necessário que haja a elevação da temperatura na ordem de 1200 ^{o}C, porém o processo de ablação ocorre em temperaturas mais baixas a esta, como se trata de um processo em que há perda de estrutura dental e promove uma superfície irregular que propicia o depósito de biofilme (Quirynen; Bollen, 1995; Hossain et al., 2003), torna-se questionável a atividade preventiva nestas condições. Borggreven et al. (1980) ressaltaram que o aumento da resistência ácida pode ocorrer em função das alterações químicas induzidas pela irradiação laser, como a eliminação do

carbonato e da água, a formação de pirofosfato e a decomposição do material orgânico (Fowler; Kuroda, 1986; Nelson et al., 1987; Ferreira et al., 1989).

Os efeitos do laser sobre o esmalte dental é dependente da temperatura atingida, sabe-se que o laser Er:YAG irradiado no limiar de ablação eleva a temperatura ao redor de 400 ^{o}C e quando utilizados com fluência de 6J/cm2 o laser leva a um aumento de temperatura de 300 ^{o}C (Fried et al., 1996), sendo esta elevação suficiente para causar a decomposição da matriz orgânica do esmalte, a qual ocorre entre 300 e 400 ^{o}C (Hsu et al., 2000) e para a diminuição do conteúdo de água e carbonato (Fowler; Kuroda, 1986; Featherstone et al., 1997).

Outra hipótese propõe que a irradiação laser forma micro poros na superfície do esmalte em função da perda de água e carbonato, os quais funcionariam como um reservatório de CaF_2, estando o mesmo disponível no momento da queda do pH na superfície do esmalte (Fowler; Kuroda, 1986; Oho; Morioka, 1990). Acredita-se também que há maior retenção e incorporação do flúor no tecido irradiado, além do estabelecimento de ligações mais efetivas do flúor com o esmalte (Flaitz et al., 1995; Hsu et al., 1998; Tepper et al., 2004).

Na análise da EDS observou-se uma maior retenção do flúor no esmalte dental após o tratamento superficial com laser Er:YAG simultaneamente à aplicação do FFA cerca de 174%. Para o grupo controle (aplicação do flúor) observou um aumento de apenas 27%, em contrapartida, o grupo irradiado com o laser sem associação teve redução de 39% do conteúdo de flúor. Este fato pode ser a provável explicação do comportamento dos diferentes grupos, principalmente para os grupos em que foi aplicado flúor antes e depois da irradiação, contudo a literatura contradiz os achados do presente estudo em que observou-se que a irradiação laser aumentou a retenção de flúor na superfície do esmalte, sendo o laser Er:YAG irradiado antes da aplicação do flúor, sob fluências de 1,8 e 0,9 J/cm^2 (Bevilácqua et al., 2008). Similarmente Tagomori e Morioka (1989) e Rios et al. (2009) afirmaram que a aplicação do flúor e a posterior irradiação laser é mais efetiva na retenção do flúor quando comparado à irradiação laser e posterior aplicação do FFA.

Estudos prévios demonstraram que o laser Er:YAG irradiado sobre o esmalte dental proporciona o aumento do conteúdo de cálcio e fósforo, sem modificar a

razão entre estes minerais (Hossain et al., 2003), sendo este fato atribuído à diminuição do contudo orgânico e não a um real aumento de minerais (Liu; Hsu, 2007). Entretanto, no presente estudo foi observado uma diminuição do conteúdo de cálcio e fósforo em todos os grupos submetidos à irradiação laser.

Na análise de microdureza não verificou diferença entre os grupos analisados em relação a área controle. Estes resultados não corroboram com os resultados encontrados para as demais análises, onde pode-se observar alterações no grau de desmineralização, além de alterações na composição química do esmalte. Estudos anteriormente realizados com o laser Er:YAG sob baixa fluência, demonstraram o aumento da resistência ácida do esmalte irradiado através da análise da dureza (Castellan et al., 2007). Entretanto, estudos realizados com o laser Er,Cr:YSGG (Hossain et al., 2003; Apel et al., 2004) não foi observado aumento da dureza de superfície, embora tenha havido menor desmineralização dos espécimes. Já, Westerman et al. (2003) analisando o laser argônio observaram aumento da dureza do esmalte irradiado.

Na análise da microscopia ótica de luz observou-se menor dimensão da desmineralização para os grupos FeL e F+L, sendo que este último diferiu dos resultados obtidos na análise do desgaste. Este resultado provavelmente se deve ao fato que na microscopia óptica analisou-se o remanescente dental desmineralizado e no desgaste analisou-se a quantidade de substrato dental perdido. O grupo F apresentou um dos maiores valores de desmineralização embora tenha apresentado o menor valor de desgaste, este fato pode ser explicado baseando-se no fato de que a solução erosiva promoveu a desmineralização do esmalte sem, no entanto, ocorrer perda dimensional do substrato. Por sua vez, o grupo FeL apresentou menor desmineralização e menor desgaste em relação a todos os grupos, o que seria o mais adequado. Assim, apesar do resultado promissor, existem poucos estudos na literatura avaliando a ação do flúor e do laser na prevenção da erosão dental, os trabalhos em geral analisam a influência destes tratamentos em modelos de cárie. Somado a este fato, há a dificuldade em se comparar os resultados deste estudo com os demais, devido às diferenças de parâmetros do laser utilizados e ao fato de não haver relatos da irradiação laser realizada simultaneamente à aplicação do flúor,

sendo necessário novos estudos para comprovar a eficácia da associação do laser /flúor.

6 Conclusão

6 Conclusão

De acordo com os tratamentos preventivos realizados, pode-se concluir que:

- A irradiação laser utilizada simultaneamente à aplicação tópica de flúor foi capaz de promover maior retenção de flúor ao esmalte dental, menor desmineralização e desgaste do esmalte dental.
- O emprego do flúor isoladamente e do flúor aplicado simultaneamente ao laser proporcionaram menor desgaste do esmalte.
- O laser Er:YAG promoveu ablação superficial do esmalte quando irradiado com fluência de 60mJ/$cm_{2,}$ 2Hz e sem refrigeração.

Referências Bibliográficas [1]

1. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Techniques for production of dental eroded lesions *in vitro.* J Oral Rehabil. 1999 feb;26(2):97-102.

2. 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 aug;46(6):697-703.

3. Ana PA, Bachmann L, Zezell DM. Lasers effects on enamel for caries prevention. Laser Physics. 2006;16(5):865-75.

4. Ana PA. Estudo *in vitro* da resistência à desmineralização e da retenção de flúor em esmalte dental irradiado com laser de Er:YSGG [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2007.

5. Anderson JR, Ellis RW, Blankenau RJ, Beiraghe SM, Westerman GH. Caries resistance in enamel by laser irradiation and topical fluoride treatment. J Clin Laser Med Surg. 2000 feb;18(1):33-6.

6. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe Hishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal terapy. Periodontol 2000. 2004 oct;36(1):59-97.

7. Apel C, Birker L, Meister J, Weiss C, Gutknecht N. The caries-preventive potential of subablative Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser radiation in an intraoral model: a piloty study. Photomed Laser Surg. 2004 aug;22(4):312-7.

8. Apel C, Meister J, Götz H, Duschner H, Gutknecht N. Structural changes in human dental enamel after subablative erbium laser irradiation and its potential use for caries prevention. Caries Res. 2005;39(1):65-70.

9. Apel C, Meister J, Schmitt H, Gräber G, Gutknecht N. Calcium solubility of dental enamel following sub-ablative Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation *in vitro*. Lasers Surg Med. 2002 jun;30(5):337-41.

10. Apel C, Schäfer C, Gutknecht N. Demineralization of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel cavities *in vitro*. Caries Res. 2003 jan-feb;37(1):34-7.

11. Arnold WH, Dorow A, Langenhorst S, Gintner Z, Bánóczy J, Gaengler P. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. BMC Oral Health. 2006 jun;6(8):1-6.

12. Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. Caries Res. 2000 jan-feb;34(1):48-52.

13. Attin T, Meyer K, Hellwig E, Buchalla W, Lennon AM. Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. Arch Oral Biol. 2003 nov;48(11):753-9.

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

15. Bachmann L, Zezell DM. Estrutura e composição de esmalte e dentina. 1a ed. São Paulo: Editora Livraria da Física; 2005. 298p.

16. Barron RP, Carmichael RP, Marcon MA, Sàndor GKB. Dental erosion in gastroesophageal reflux desease. J Can Dent Assoc. 2003 feb;69(2):84-9.

17. Bartlertt DW, Smith BG, Wilson RF. Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear *in vitro* and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. Br Dent J. 1994 may;176(9):346-8.

18. Bartlett DW, Coward PY. Comparison of erosive potential of gastric juice and a carbonated drink *in vitro*. J Oral Rehabil. 2001 nov; 28(11):1045-7.

19. Benages A, Muñoz JV, Sanchiz V, Mora V, Mínguez M. Dental erosion as extraesophageal manifestation of gastro-esophageal reflux. Inter J Gastroenterol Hepatol. 2006;55(7):1050-1.

20. Bevilácqua FM, Zezell DM, Magnani R, Ana PA, Eduardo CP. Fluoride uptake and acid resistance of enamel irradiated with Er:YAG laser. Lasers Med Sci. 2008 apr;23(2):141-7.

21. Bevilácqua FM. Estudo *in vitro* da incorporação de flúor e resistência ácida do esmalte dental irradiado com laser de Er:YAG: análise de espectrometria e absorção atômica e espectrofotometria [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2002.

22. Blankenau RJ, Powell GL, Ellis RW, Westerman GH. In vivo caries-like lesion prevention with argon laser: pilot study. J Clin Laser Med Surg. 1999 dec;17(6):241-3.

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

24. Burkes EJ, Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. J Prosthet Dent. 1992 jun;67(6):847-51.

25. Carmellingo C, Lepore M, Gaeta GM, Riccio R, Riccio C, De Rosa A, De Rosa M. Er:YAG laser treatments on dentine surface: micro-Raman spectroscopy and analysis. J Dent. 2004 jul;32(5):399-405.

26. Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RMG, Mendes FM, Eduardo CP, Freitas PM. *In vitro* evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. Photo Laser Surg. 2007 apr;25(2):85-90.

27. Ceballos l, Osório R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restoration after Er:YAG cavity treatments. Dent Mater. 2000 jul;17(4):340-6.

28. Cheng R, Yang H, Shao M-y, Hu T, Zhou X-d. Dental erosion and severe tooth decay related to soft drinks: a case report and literature review. J Zhejiang Univ Sci B. 2009 may;10(5):395-9.

29. Coleman GC, Nelson JF. Princípios de diagnóstico bucal. 2a ed. Rio de Janeiro:Editora Guanabara Koogan; 1996.

30. Correa-Afonso AM, Ciconne-Nogueira JC, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Influence of the irradiation distance and the use of cooling to increase enamel-acid resistance with Er:YAG laser. J Dent. 2010 jul; 38(7):534-40.

31. Cury JA. Uso do flúor e controle da como doença. In: Baratieri LN et al. Odontologia Restauradora – Fundamentos e Possibilidades. 4a ed. São Paulo: Artes Médicas; 2002. 739 p.

32. Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NAF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. Am J Dent. 2002 jun;15(3):169-72.

33. Dijkman AG, 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.

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

35. Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidid beverages increase the risk of *in vitro* tooth erosion. Nutr Res. 2008 may;28(5):299-303.

36. Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Meister J, Franzen R, Stanzel S, Lampert F, Eduardo CP Apel C. CO2 laser (10,6 µm) parameters for caries prevention in dental enamel. Caries Res. 2009 may;43:261-8.

37. Featherstone JDB. Caries detection and prevention with laser energy. Dent Clin North Am. 2000a oct;44(4):955-69.

38. Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc. 2000b jul;131(7):887-99.

39. Featherstone JDB, Fried D, Bitten ER. Mechanism of laser induced solubility reduction of enamel. In: Wigdor HA, Featherstone JDB, White JM, Neev J. Lasers in Dentistry II. Bellinghan, WA: SPIE1996;2672:112-6.

40. Featherstone JDB, Fried D, Bitten ER. Mechanism of laser induced solubility reduction in dental enamel. SPIE. 1997;2973:112-6.

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

42. Featherstone JDB, Melberg JR. Relative rates of progress f artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. Caries Res. 1981;15:109-14.

43. Featherstone JDB, Nelson DGA. Laser effects on dental hard tissues. Adv Dent Res. 1987 dec;1(1):21-6.

44. Featherstone JDB, Shields CP, Khademazad B, Oldershaw MD. Acid reactivity of carbonated-apatites with strontium and fluoride substitutions. J Dent Res. 1983 oct;62:(10)49:53.

45. Featherstone JDB. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. Community Dent Oral Epidemiol. 1999 feb;27(1):31-40.

46. Ferjeskov O, Kidd E. Cárie Dentária: a doença e seu tratamento clínico. 1a ed. São Paulo: Editora Santos; 2005. 390p.

47. Ferreira JN, Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ. Effects of continuous-wave CO_2 on the ultrastructure of human dental enamel. Arch Oral Biol. 1989;34(7):551-62.

48. Flaitz CM, Hicks MJ, Wersterman GH, Berg JH, Blankenau RJ, Powell GL. Argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment in caries-like lesion formation in enamel: an *in vitro* study. Pediatric Dent 1995 jan-feb;17(1):31-5.

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

50. Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J, Powell GL. The combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. Caries Res. 1992;26(5):333-9.

51. Freitas PM, Rapozo-Hilo M, Eduardo CP, Featherstone JDB. *In vitro* evaluation of erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser-treated enamel demineralization. Lasers Med Sci. 2008 mar;25(2):165-70.

52. Freitas PM. Estudo in vitro do efeito da irradiação com o laser Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte dental [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2005.

53. Fried D, Ashouri N, Breunig T, Shori R. Mechanism of water augmentation during IR laser ablation of dental enamel. Lasers Surg Med. 2002 sep;31(3):186-93.

54. Fried D, Featherstone JDB, Visuri SR, Seka W, Walsh JT. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation (proceedings paper). SPIE. 1996 apr;2672:73-8.

55. Fushida CE, Cury JA. Estudo *in situ* do efeito da freqüência da ingestão de Coca-Cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. Rev Odontol Univ São Paulo. 1999 abr-jun;13(2):127-34.

56. Ganns C, Lussi A, Sommer N, Klimek J, Schlueter ND. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentin. Caries Res. 2010 jul;44(3):248-52.

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

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

59. Gimbel CB. Hard tissue laser procedures. Dent Clin North Am. 2000 oct;44(4):931-53.

60. Goodman BD, Kaufman HW. Effects of an argon laser on the crystalline properties and rate of dissolution in acid of tooth enamel in the presence of sodium fluoride. J Dent Res. 1977 oct;56(10):1201-7.

61. Grando JL, Gabilan NH, Petry A. Erosão dental: estudo *in vitro* da erosão causada por refrigerantes e suco de limão no esmalte de dentes decíduos humanos – análises bioquímicas. Rev Odontoped. 1995 jan-mar;4(1):1-10.

62. Graubart J, Gedalia I, Pisanti S. Effects of fluoride pretreatment *in vitro* on human teeth exposed to citrus juice. J Dent Res. 1972 nov-dec;51(6):1677.

63. Gray A, Ferguson MM, Wall JG. Wine tasting and dental erosion. Case report. Aust Dent J. 1998 feb;43(1):32-4.

64. Grippo JO. Abfractions: a new classification of hard tissue lesions of teeth. J Esthet Rest Dent. 1991 jan;3(1):14-9.

65. Grobler SR, Senekal PJC, Kotze TJ. The degree of enamel erosion by five different kinds of fruit. Clin Prev Dent. 1989 sep-oct;11(5):23-8.

66. Hannig M, Balz M. Influence of *in vivo* formed salivary pellicle on enamel erosion. Caries Res. 1999 sep-oct;33(5):372-9.

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

68. Hefferren JJ. Why is there and should there be more attention paid to dental erosio? Compend Contin Educ Dent. 2004 sep;25(1):4-8.

69. Hicks J, Winn D, Flaitz C, Powell L. *In vivo* caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment; a clinical pilot study. Quintessence Int. 2004 jan;35(1):15-20.

70. Hicks MJ, Flaitz CM, Westerman GH, Berg JH, Blankenau RL, Powell GL. Caries-like lesion initiation and progression in sound enamel following argon laser irradiation: an *in vitro* study. ASDC J Dent Child. 1993 may-jun;60(3):201-6.

71. Hossain M, Nakamura Y, Murakami Y, Yamada Y, Matsumoto K. A comparative study on compositional changes and Knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er:YAG laser irradiation and mechanical bur cavity. J Clin Laser Med Surg. 2003 feb;21(1):29-33.

72. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto K. Caries-preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. J Clin Laser Med Surg. 2000 apr;18(2):61-5.

73. Hossain MM, Hossain M, Kimura Y, Kinoshita J-I, 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 apr;20(2):77-82.

74. Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO_2 laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. J Dent Res. 2000 sep;79(9):1725-30.

75. Hsu J, Fox JL, Wang Z, Powell GL, Otsuka M, Higuchi WI. Combined effects of laser irradiation/solution fluoride íon on enamel demineralization. J Clin Laser Med Surg. 1998 apr;16(2):93-105.

76. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci. 1996 apr;104(2):151-5.

77. Järvinen VK, Rytömaa II, Heinonen OP. Risk factores in dental erosion. J Dent Res. 1991 jun;70(6):942-7.

78. Johansson AK, Lingström P, Imfeld T, Birkhed D. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. Eur J Oral Sci. 2004 dec;112(6):484-9.

79. Kato IT, Kohara EK, Sarkis JE, Wetter NU. Effects of 960-nm diode laser irradiation on calcium solubility of dental enamel: an *in vitro* study. Photomed Laser Surg. 2006 dec;24(6):689-93.

80. Korytnicki D, Mayer MPA, Daronch M, Singer JdaM, Grande RHM. Effects of Nd:YAG laser on enamel microhardness and dental plaque composition: an *in situ* study. Photo Laser Surg. 2006 feb;24(1):59-63.

81. Larsen MJ, Brun C. A química da cárie dentária e o flúor – mecanismo de ação: In Thylsthrup A, Fejerskov O. Cariologia Clínica. 1a ed. São Paulo: Livraria Editora Santos; 1995.33-68p.

82. 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.

83. LeGeros RZ. Calcium phosphates in demineralization/remineralization processes. J Clin Dent. 1999;10(2):65-73.

84. LeGeros RZ. Calcium phosphates in enamel, dentine and bone; in Myers HM. Calcium Phosphates. Oral Biol Med. 1991;15:108-29.

85. Levitch LC, Bader JD, Shugars DA, Heymann HO. Non-carious cervical lesions. J Dent. 1994 aug;22(4):195-207.

86. Li ZZ, Code JE, Van De Merwe WP. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. Lasers Surg Med. 1992;12(6):625-630.

87. Liu Y, Hsu CY. Laser-induced compositional changes on enamel: a FT-Raman study. J Dent. 2007 mar;35(3):226-30.

88. Luo Y, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R. The prevalence of dental erosion in preschool children in China. J Dent. 2005 feb;33(2):115-21.

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

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

91. Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ. Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization *in vitro*. J Dent Res. 1986 jan;65(1):23-9.

92. Martinez-Insua A, Da Silva-Dominguez L, Rivera FG, Santana-Penín UA. Differences in bonding to acid-etched or Er:YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. J Prosth Dent. 2000 sep;84(3):280-8.

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

94. Meurman JH, Hemmerlé J, Voegel JC, Rauhamaa-Mäkinen R, Luomanen M. Transformation of hydroxyapatite to fluorapatite with high-energy CO_2 laser. Caries Res 1997;31(5):397-400.

95. Meurman JH, Ten-Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. Eur J Oral Sci. 1996 apr;104(2):199-206.

96. Meurman JH, Vesterinen M. Wine, alcohol, oral health, with special emphasis on dental erosion. Quintessence Int. 2000 nov-dec;31(10):729-33.

97. Morioka T, Tagomori S, Oho T. Acid resistance of lased human enamel with Er:YAG laser. J Clin Laser Med Surg. 1991 jun;9(3):215-7.

98. Moss SJ. Dental erosion. Int Dent J. 1998 dec;48(6):529-39.

99. Nammour S, Demortier G, Florio P, Delhaye Y, Pireaux JJ, Morciaux Y, Powell L. Increase of enamel fluoride retention by low fluence argon laser *in vivo*. Lasers Surg Med. 2003 oct;33(4):260-3.

100. Nammour S, Rocca JP, Pireaux JJ, Powell GL, Morciaux Y, Demortier G. Increase of enamel fluoride retention by low fluence argon laser beam: a 6-month follow-up study in vivo. Lasers Surg Med. 2005 mar;36(3):220-4.

101. Nara Y, Tagomori S, Numata Y, Morioka T. Effect of Erbium:YAG laser irradiation on acid resistance of human tooth enamel. Surg Med Lasers. 1990;3(4):208-10.

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

103. 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.

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

105. Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and Coca soft drink on in vitro enamel hardness. J Am Dent Assoc. 2009;140(4):455-60.

106. Pegoraro CN, Sakamoto FFO, Domingues FA. Perimólise: etiologia, diagnóstico e prevenção. Rev da APCD. 2000 mar-abr;54(2):156-61.

107. Pelino JE, Mello JB, Eduardo CP, Jorge AO. *In vitro* study of the Nd:YAG laser effect on human dental enamel: optical and scanning electron microscope analisys. J Clin Laser Med Surg. 1999;174:171-7.

108. Phan ND, Fried D, Featherstone JDB. Laser-induced transformation of carbonated apatite to fluorapatite on bovine enamel (proceedings paper). SPIE. 1999;3593:233-40.

109. Quirynen M, Bollen CML. The fluence of surface roughness and surface-free energy on supra and subgengival plaque formation in man – a review of the literature. J Clin Periodontol. 1995 jan;221:1-14.

110. Ramalingam L, Messer LB, Reynolds EC. Adding casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate *in vitro* erosion. Pediatr Dent. 2005 jan-feb;27(1):61-7.

111. Ren YF, Zhao Q, Malmstrom H, Barnes V, Xu T. Assessing fluoride treatment and resistance of dental enamel to soft drink erosion in vitro: Applications of focus variation 3D scanning microscopy and stylus profilometry. J Dent 2009 mar;37(3):167-76.

112. Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, Buzalaf MA. 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.

113. Rios D, Magalhães AC, Machado MAAM, Silva SMB, Lizarelli RFZ, Bagnato VS, Buzalaf MAR. *In vitro* evaluation erosion after Nd:YAG laser irradiation and fluoride application. Photomed Laser Surg. 2009 oct;27(5):743-7.

114. Seka W, Featherstone JDB, Fried D, Visuri SR. Laser ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma-mediated ablation (proceedings paper). SPIE 1996;2672:144-58.

115. Shaw L, Smith AJ. Dental erosion – the problem and some practical solutions. Br Dental J. 1999 feb;186(3):115-8.

116. Sobral MAP, Lachowski KM, Rossi W, Braga SRM, Ramalho KM. Effect of Nd:YAG laser and acidulated phosphate fluoride on bovine and human enamel submitted to erosion/abrasion or erosion only: an in vitro preliminary study. Photomed Laser Surg. 2009 oct;27(5):709-13.

117. Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A, Garone Neto N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. Pesq Odontol Bras. 2000 out-dec;14(4):406-10.

118. Sognnaes RF, Wolcott RB, Xonga FA. Erosion-like paterns accurring in association with other dental conditions. J Am Dent Assoc. 1972;84(3):571-6.

119. Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, Zero DT, Eckert G, Hara AT. Effect of a pulsed CO2 laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. Arc Oral Biol. 2010 feb;55(2):127-33.

120. Stern RH, Sognnaes RF. Laser beam effect on dental tissues. J Dent Res. 1964;43:873.

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

122. Strohmenger L, Brambilla E. The use of fluoride varnishes in the prevention of dental caries: a short review. Oral Dis. 2001 mar;7(2):71-80.

123. Tagliaferro EPS, Rodrigues LKA, Nobre dos Santos M, Soares LES, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an in situ study. Caries Res. 2007;41(1):74-6.

124. Tagomori S, Morioka T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. Caries Res. 1989;23(4):225-31.

125. ten Cate JM, Buijs MJ, Damen JJM. pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentration of fluoride. Eur J Oral Sci. 1995 dec;103(6):362-7.

126. ten Cate JM, Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. Crit Rev Oral Biol Med. 1991;2(2):283-96.

127. ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. Eur J Oral Sci. 1996 apr;104(2)241-4.

128. Tenuda LMA, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. Brz Oral Res. 2010 may;24(1):9-17.

129. Tepper AS, 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 nov;32(8):635-41.

130. Vaezi MF, Singh S, Richter JE. Role of acid and duodenogástrico in esophageal mucosal injury: A review of animal and human studies. Gastroenterology. 1995 jun;108(6):1897-907.

131. Verlangieri EJ. Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG e Er:YAG sobre o esmalte dental humano através de microscopia eletrônica de varredura [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2001.

132. West NX, Hughes JA, Addy M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids *in vitro*. J Oral Rehab 2001. sep;28(9):860-4.

133. Westerman GH, Hicks MJ, Flatiz CM, Blankenau RJ, Powell GL. Combined effects of acidulated phosphate fluoride and argon laser on sound root surface morphology: an *in vitro* scanning electron microscopy study. J Clin Laser Med Surg. 1999 apr;17(2):63-8.

134. Westermann GH, Ellis RW, Latta MA, Powell GL. An *in vitro* study of enamel surface microhardness following argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment. Ped Dent. 2003 sep-oct;25(5):497-500.

135. Wetton S, Hughes J, West N, Addy M. Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study *in vitro*. Caries Res. 2006;40(3):213-7.

136. Ying D, Chuah GK, Hsu CTS. Effect of Er:YAG and organic matrix on porosity changes in human enamel. J Dent. 2004 jan:32(1):41-6.

137. Yokoyama K, Kimura Y, Matsumoto K, Fijishima A, Miyazaki T. Preventive effect of tooth fracture by pulsed Nd:YAG laser irradiation with diamine silver fluoride solution. J Clin Laser Med Surg. 2001 dec;19(6):315-8.

138. Young DA, Fried D, Featherstone JDB. Treating occlusal pit and fissure surfaces by IR laser irradiation; in Featherstone JDB, Reachmann P, Fried D (Eds): Lasers in Dentistry VI. SPIE 2000;3910:247-253.

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

140. Zezell DM, Boari HGD, Ana PA, Eduardo CP, Powell GL. Nd:YAG laser in caries prevention: a clinical Trial. Lasers Surg Med. 2009 jan;41(1):31-5