
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

RENATA SIQUEIRA SCATOLIN

**Análise *in situ* da irradiação com laser de Er:YAG no controle da
progressão de lesões de erosão e abrasão do esmalte dental**

RIBEIRÃO PRETO

2014

RENATA SIQUEIRA SCATOLIN

**Análise *in situ* da irradiação com laser de Er:YAG no controle da
progressão de lesões de erosão e abrasão do esmalte dental**

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Doutora em Ciências, no Programa: Odontologia
Restauradora, Área de Concentração: Odontologia
Restauradora - Dentística*

Orientadora: Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona

RIBEIRÃO PRETO

2014

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

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Scatolin, Renata Siqueira.

Análise in situ da irradiação com laser de Er:YAG no controle da progressão de lesões de erosão e abrasão do esmalte dental/ Renata Siqueira Scatolin; orientadora Prof.^a Dr.^a Silmara Aparecida Milori Corona. Ribeirão Preto, 2014.

71f. : il.; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/ USP. Área de concentração: Odontologia Restauradora – Opção: Dentística.

1. Abrasão. 2. Esmalte. 3. Erosão. 4. Laser de Er:YAG. 5. Perfilometria.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: SCATOLIN, Renata Siqueira

Título: Análise *in situ* da irradiação com laser de Er:YAG no controle da progressão de lesões de erosão e abrasão do esmalte dental.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

*Agradecimentos
Especiais*

A Deus, por ter me dado força e condições de lutar, alcançando os objetivos pretendidos.

Aos meus pais Wanderley e Cidinha, e meus irmãos, Teco e Gabi pela compreensão e ajuda em todos os momentos que precisei. Obrigada pelo apoio para que eu vencesse mais esta etapa em busca de uma melhor formação.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Silmara Aparecida Milori Corona, profissional dedicada, bem humorada e educada, que fez com que nosso convívio fosse sempre muito agradável. Agradeço por ter confiado mais uma vez em mim, me dando a oportunidade de ser orientada por ela também no doutorado. Sempre me incentivando e nunca me deixando desviar do meu objetivo.

Ao meu noivo, Fernando Lubrechet, pelo companheirismo, por me ouvir e compreender muitas vezes o meu nervosismo e minha falta de paciência. Obrigada por sempre me aconselhar a continuar para que eu obtivesse mais essa conquista.

À Taísa Lepri, parceira nos trabalhos e uma grande amiga que fiz na pós graduação. Obrigada pela ajuda e pela convivência durante todo este período.

Às minhas amigas da época da graduação, Bruna Kotake, Camila Sant'ana, Lídia Hidalgo, Raquel Parra e Renata Colturato, que mesmo longe nunca deixaram que perdêssemos o contato. Amigas pra vida!

Aos voluntários deste trabalho, Adrielly, Ana Bárbara, Bruna, Camila, Daniel, Fernando, Gabriela, Júlia, Juliana D., Lídia, Mariana, Mariângela, Marília, Rodrigo, Taísa e Wilson, pela boa vontade e paciência na realização deste estudo. Mais uma vez não tenho palavras para agradecer, muito obrigada pela colaboração!

Agradecimientos

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, representada pelo Digníssimo Diretor Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros e pela Vice-Diretora Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva.

À Coordenação Geral da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, na pessoa do Prof. Dr. Arthur Belém Novaes Júnior.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, na pessoa do Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto.

Ao Chefe do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, na pessoa do Prof. Dr. Marcelo Oliveira Mazzetto.

Aos Professores do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, Aline de Souza Gabriel, Antonio Miranda da Cruz Filho, César Bataglioni, Fernando Mandarino, Luis Henrique de Camargo Thomé, Luiz Pascoal Vansan, Manoel Damião de Sousa Neto, Marcelo Mazzetto, Marco Antonio Moreira Rodrigues da Silva, Mônica Campos Serra, Regina Guenka Palma-Dibb, Silmara Aparecida Milori Corona, pela agradável convivência nas clínicas e disciplinas, e pelos conhecimentos transmitidos durante a pós-graduação.

Aos colegas de mestrado e doutorado, Ana Bárbara, Camila Scatena, Carmen Victoto, César Lepri, Daniel Galafasssi, Júlia Barone, Júlia Sanches, Juliana Derceli, Juliana Faraoni, Késsia Mesquita, Mariana Alencar, Rodrigo Valério, Silvana Polizeli, pelas risadas, pelo convívio e disponibilidade em me ajudar sempre que precisei.

À Vivian Colucci, pela valiosa colaboração no delineamento experimental deste projeto e nas considerações durante a redação dos artigos científicos.

Ao Rodrigo Galo, pela colaboração na análise estatística deste trabalho, e principalmente por me incentivar a ir mais longe, intermediando seus contatos para que eu pudesse realizar meu estágio na Universidade do Minho em Portugal.

Aos professores Aline de Souza Gabriel, Daniela Rios, Maria Cristina Borsatto, Lucianne Cople Maia, Renato Herman Sundfeld, Rodrigo Galo, Silmara Aparecida Milori Corona, Vivian Colucci, que marcaram direta ou indiretamente minha pós graduação. Profissionais competentes com quem pude desenvolver parte de meus trabalhos.

À professora Ana Maria Pinto e a aluna Alexandra Alves que me receberam muito bem em Portugal, e permitiram a realização de estágio na Universidade do Minho.

À doutoranda Adilis Kalina Alexandria pela disponibilidade em me ajudar quando realizei as análises de perfilometria óptica na Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Aos amigos Fabrício Lubrechet, Gisele Tuckmantel e Matheus Carvalho pelo apoio.

Ao Carlos, secretário do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - USP, por ser sempre tão prestativo e paciente comigo.

À técnica Patrícia Marchi, do Laboratório de Pesquisa em Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pela amizade e preparo das soluções sempre que precisei.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, pela atenção e disposição.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, Isabel Sola, Mary Carmessano e Regiane Sacilotto, pela dedicação e ajuda constante aos alunos.

À FAPESP pela concessão do auxílio financeiro sob a forma de bolsa de estudo que permitiu maior dedicação ao curso de pós-graduação e a possibilidade da realização de mais um dos meus objetivos.

À Professora Lucianne Cople Maia por permitir o uso do perfilômetro utilizado nas análises deste estudo, e a Universidade Federal do Rio de Janeiro pelo acolhimento.

Ao Banco Santander pela concessão da Bolsa de Mobilidade Santander que permitiu a realização de estágio na Universidade do Minho em Portugal durante o período do doutorado.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade.

RESUMO

SCATOLIN, R. S. **Análise *in situ* da irradiação com laser de Er:YAG no controle da progressão de lesões de erosão e abrasão do esmalte dental.** 2014. 71f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Este estudo, composto por 2 experimentos *in situ*, teve como objetivo avaliar o efeito do laser de Er:YAG no controle da progressão de lesões de erosão e abrasão no esmalte dental. Incisivos bovinos foram seccionados (5x3x2,5mm), planificados e polidos. Os fragmentos de esmalte (KHN=330±10%) tiveram parte da superfície coberta com resina composta (área de referência), e posteriormente foram submetidos à formação de lesões erosivas com ácido cítrico 1% (pH = 2,3), 5 minutos, 2x/dia, durante 2 dias. No primeiro experimento, 56 espécimes foram divididos em dois grupos de acordo com o tratamento de superfície: irradiados com laser de Er:YAG (5,2J/cm², 2Hz, 85mJ, 10s) e não irradiados, e subdivididos de acordo com o tipo de desgaste: erosivos (ácido cítrico) e não erosivos (água deionizada). A realização dos desafios foi realizada através da imersão dos dispositivos em 100mL de ácido cítrico ou água deionizada, 3x/dia, de maneira alternada e independente. O desgaste do esmalte foi determinado por um perfilômetro óptico 3D após: formação inicial da lesão erosiva, tratamento da superfície e fase intraoral. A avaliação de desgaste foi verificada por meio de três leituras de cada área em relação a área de referência. Os dados foram analisados através da análise de variância (ANOVA) e do teste Tukey. No primeiro experimento quando utilizou-se água deionizada (desafios não erosivos) na fase intraoral, os espécimes apresentaram menores valores de desgaste comparados aos grupos que foram erodidos, independentemente de terem sido irradiados ou não com laser de Er:YAG. No entanto, quando erodidos na fase intraoral, o grupo irradiado com laser de Er:YAG não diferiu do grupo não irradiado. O desgaste do esmalte foi avaliado qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura em 3 espécimes de cada grupo. No segundo experimento, 48 espécimes foram divididos em dois grupos de acordo com o tratamento de superfície: irradiados com laser de Er:YAG (5,2 J/cm², 2Hz, 85mJ, 10s) e não irradiados, e subdivididos de acordo com o tipo de desgaste: erosivos (ácido cítrico) e erosivos associado a abrasão (ácido cítrico e escovação). A

realização dos desafios, foi realizada através da imersão dos dispositivos em 100mL de ácido cítrico e imersão em ácido cítrico+escovação, de cada um dos lados do dispositivo, 3x/dia. As análises de perfilometria e microscopia eletrônica de varredura foram realizadas como descritas nos procedimentos do primeiro experimento. Os dados obtidos no segundo experimento foram submetidos à análise estatística de forma separada e independente do primeiro experimento, utilizando o teste Kruskal-Wallis e o teste Mann-Whitney. Os resultados deste segundo experimento mostraram que após os desafios erosivos e abrasivos, o grupo que foi irradiado com laser de Er:YAG apresentou menores valores de desgaste quando comparados com o grupo que não foi irradiado. O grupo que sofreu apenas erosão e foi irradiado com laser de Er:YAG não diferiu significativamente quanto aos valores de desgaste do grupo não irradiado. Assim, pode-se concluir que o laser de Er:YAG não controlou o desgaste do esmalte quando submetidos apenas a desafios erosivos, porém, foi capaz de controlar o desgaste do esmalte quando submetidos a processos abrasivos subsequentes.

Palavras-chave: Abrasão. Esmalte. Erosão. Laser de Er:YAG. Perfilometria

ABSTRACT

SCATOLIN, R. S. *In situ* analysis of Er:YAG laser irradiation to control the progression of erosive and abrasive lesions on tooth enamel. 2014. 71f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

This study, composed of two *in situ* experiment, evaluated the effect of Er:YAG laser irradiation to control the progression of erosive and abrasive lesions on enamel. Bovine incisors were sectioned (5x3x2.5mm), flattened and polished. The enamel slabs (KHN = 330 ± 10%) with one fourth of the surface covered with resin composite (reference area) were submitted to initial erosion-like lesion formation with 1% citric acid (pH 2,3), 5 min, 2x/day for 2 days. In the first experiment, 56 slabs were divided into two groups according to the surface treatment: irradiated with Er:YAG laser (5,2 J / cm², 2 Hz, 85 mJ, 10 s) and non-irradiated, and subdivided according to the type of wear: erosive (citric acid) and non-erosive (deionized water). The challenges were performed by immersing the devices in 100 mL citric acid or deionized water, 3x/day, randomly and independently. Enamel loss was determined by an optical 3D profilometer after: initial erosion, surface treatment and intraoral phase. The average of structure loss was verified by three readings of each experimental area comparing with reference area. Data was analyzed using the analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test. In the first experiment, when used deionized water (non-erosive challenges) in intraoral phase, the specimens showed lower values of wear compared with the groups that were eroded with citric acid, whether irradiated or non-irradiated with Er:YAG laser. When erosion with citric acid was performed, Er:YAG laser didn't differ from non-irradiated group. The enamel wear was assessed qualitatively by scanning electron microscopy in 3 specimens of each group. In the second experiment, 48 slabs were divided into two groups according to the surface treatment: irradiated with Er:YAG laser (5,2 J/cm², 2 Hz, 85 mJ, 10 s) and non-irradiated and subdivided according to the type of wear: erosive (citric acid) and erosive associated with abrasive (citric acid + brushing). The challenges were performed by immersing the devices in 100 mL citric acid and citric acid+brushing on each side of the device. The profilometry and scanning electronic microscopy analysis were performed as described in the procedures of the first experiment. The

data from the second study were statistically analyzed separately and independently of the first experiment, using the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test. The results of the second experiment showed that after erosive and abrasive challenges, the group irradiated with Er:YAG laser showed lower structure loss than non-irradiated group. The group that suffered erosion and was irradiated, did not differ significantly from the non-irradiated group. Thus, it can be concluded the Er:YAG laser irradiation didn't control the enamel loss when submitted to erosive challenges, however, was able to control the enamel loss when submitted to abrasive challenges.

Keywords: Abrasion. Enamel. Erosion. Er:YAG laser. Profilometry.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. PROPOSIÇÃO.....	27
3. MATERIAL E MÉTODO.....	31
3.1. Experimento 1.....	33
3.2. Experimento 2.....	40
4. RESULTADOS.....	45
4.1. Experimento 1.....	47
4.2. Experimento 2.....	49
5. DISCUSSÃO.....	51
6. CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
ANEXO.....	66
APÊNDICE.....	68

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida dos pacientes associado ao declínio da prevalência de cárie dentária no Brasil (CURY et al., 2004) e nos países desenvolvidos (WANG; LUSI, 2010), faz com que lesões cervicais não cariosas tornem-se cada vez mais frequentes na clínica odontológica, entre elas a erosão e a abrasão.

A erosão dental ocorre frente a ação de ácidos de origem intrínseca ou extrínseca e sem o envolvimento de bactérias (TEN CATE; IMFELD, 1996). Os ácidos de origem intrínseca podem ser advindos do estômago em indivíduos que apresentam refluxo gastro-esofágico, bulimia e anorexia (BARTLETT, 2006), e os ácidos de origem extrínseca estão geralmente relacionados a ingestão de alimentos, bebidas ou medicamentos ácidos (LUSI;JAEGGI; ZERO, 2004). A desmineralização causada por processos erosivos é caracterizada inicialmente por amolecimento da superfície, seguida de dissolução contínua dos cristais de esmalte, levando a perda de tecido dental duro (LUSI et al., 2011). Neste estado enfraquecido, as superfícies dentais estão mais propensas ao desgaste por ação abrasiva (ATTIN et al., 1997; ATTIN et al., 2000; EISENBURGER; SHELLIS; ADDY, 2003; RIOS et al., 2006). A forma mais frequente de abrasão é a escovação, onde fatores como técnica e força de escovação, rigidez das cerdas da escova dental e abrasividade do dentífrico utilizado podem estar envolvidos (MAGALHÃES; WIEGAND; BUZALAF, 2014).

O processo de perda de estrutura dentária por desafios erosivos e abrasivos é irreversível, e na tentativa de reduzir a incidência e prevalência destas lesões, têm sido propostas estratégias para minimizar a desmineralização e potencializar a remineralização do substrato dental frente a desafios ácidos (FOWLER et al., 2009; HJORTSJÖ et al., 2010; SCHLUETER et al., 2010; STEINER-OLIVEIRA et al., 2010; WIEGAND et al., 2010). Dentre as medidas preventivas mais comuns, que visam modular o processo de desmineralização e remineralização, observa-se o uso de produtos fluoretados (FOWLER et al., 2009; HJORTSJÖ et al., 2010; HUYSMANS et al., 2011; HUYSMANS; YOUNG; GANSS, 2014; LEVY et al., 2014; MURAKAMI et al., 2009; SCHLUETER et al., 2010; SOUZA et al., 2014; WIEGAND et al., 2010), porém, sua aplicação apresenta eficácia limitada na redução de perdas minerais diante de desafios erosivos (LARSEN, 2001; LARSEN; RICHARDS, 2002; VAN

RIJKOM et al., 2003). A camada de CaF₂ formada com o uso de compostos fluoretados é supostamente dissolvida ao longo do tempo pela maioria das bebidas ácidas (LARSEN, 2001; LARSEN; RICHARDS, 2002), sendo viável tornar essa superfície mais estável e, conseqüentemente, mais resistente a desafios ácidos.

Outras terapias têm sido propostas para minimizar a desmineralização, como por exemplo, o uso do laser de Er:YAG. O laser de Er:YAG apresenta comprimento de onda de 2,94 µm, que coincide com o espectro de absorção de água, e que resulta em máxima absorção e completa transformação em energia térmica. A temperatura gerada nos tecidos irradiados com laser de Er:YAG é capaz de causar alterações químicas (CECCHINI et al., 2005; DIAZ-MONROY et al., 2014) ou morfológicas (DELME; DE MOOR, 2007; LIMA et al., 2014; MANUELA DIAZ-MONROY et al., 2014; RODRIGUEZ VILCHIS et al., 2010; RODRIGUEZ VILCHIS et al., 2011), dependendo dos parâmetros empregados. A irradiação com laser de Er:YAG pode promover a desnaturação parcial da matriz do esmalte, formando um bloco mineral que dificulta a difusão dos ácidos no interior dos tecidos (YING; CHUAH; HSU, 2004), evitando possivelmente também a progressão de lesões erosivas e conseqüentemente minimizando o desgaste provocado por lesões abrasivas. Outra hipótese sobre o mecanismo pelo qual o laser aumenta a resistência do esmalte é de que temperaturas de irradiação entre 100 e 650°C podem reduzir a quantidade de água e carbonato do tecido resultando no aumento da resistência ao ácido (FOWLER; KURODA, 1986). Alguns estudos sugerem ainda que o aumento da resistência ácida do esmalte esteja relacionado com mudanças morfológicas no tecido (HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2001), onde a formação de microespaços podem agir como uma zona de precipitação de íons, que contribui para a remineralização do esmalte (CECCHINI et al., 2005).

A literatura vem apresentando resultados positivos em relação ao controle da desmineralização do esmalte por processos cariogênicos (CASTELAN et al., 2007; CECCHINI et al., 2005; COLUCCI et al., 2014; CORREA AFONSO et al., 2010; HOSSAIN et al., 2000; LIU et al., 2013), empregando como tratamento o laser de Er:YAG. Porém, a literatura é ausente de estudos que avaliaram o efeito da aplicação deste laser no controle da erosão do esmalte *in situ*. Fatores relacionados a cavidade oral podem interferir no desenvolvimento e na progressão das lesões de erosão, permitindo a formação de película adquirida através da saliva, considerada

um fator de proteção (ZERO et al., 2006), ocasionando menores perdas erosivas em relação aos modelos *in vitro* (HOOPER et al., 2007).

Do ponto de vista ideal, a superfície ácido resistente induzida pelo laser de Er:YAG deveria resistir a erosão e a abrasão para que o efeito protetor frente a desafios ácidos seja mantido ao longo do tempo. Assim, levando-se em conta os danos provocados pela erosão e abrasão, e os efeitos que os lasers de alta potência podem causar para o aumento da resistência ácida do esmalte, o propósito deste estudo foi avaliar *in situ* o tratamento com laser de Er:YAG como um método alternativo no controle da progressão de lesões de erosão e abrasão.

Proposição

2. PROPOSIÇÃO

O presente estudo, composto por dois experimentos *in situ*, tem por objetivo avaliar:

- O efeito do laser de Er:YAG no controle da progressão de lesões de erosão no esmalte dental, por meio de perfilometria óptica 3D e microscopia eletrônica de varredura.

- O controle do desgaste abrasivo nas superfícies erodidas e previamente irradiadas com laser de Er:YAG, por meio de perfilometria óptica 3D e microscopia eletrônica de varredura.

Material e Método

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Experimento 1

Delineamento experimental

Este estudo *in situ* foi realizado de acordo com um delineamento *cross-over* 2x2, duplo-cego, com duas fases de cinco dias cada e um intervalo de quinze dias entre elas (*wash-out*). Os fatores em estudo foram tratamento de superfície em 2 níveis: irradiados com laser de Er:YAG (5,2 J/cm², 2 Hz, 85 mJ, 10 segundos) e não irradiados, e subdivididos de acordo com o tipo de desgaste em 2 níveis: erosivos (ácido cítrico 1%, pH 2,3) e não erosivos (água deionizada). A amostra do experimento teve 56 fragmentos de esmalte bovino, aleatoriamente distribuídos entre 14 voluntários, que realizaram desafios erosivos com ácido cítrico ou água deionizada, de maneira alternada e independente em cada fase experimental, cuja sequência foi definida por sorteio. A variável de resposta foi obtida através da análise de desgaste (µm) por meio de perfilometria óptica 3D. A análise qualitativa dos resultados foi realizada através da análise morfológica da superfície de esmalte por meio de microscopia eletrônica de varredura, em 3 espécimes de cada grupo, selecionados aleatoriamente. Figura 1 representa o fluxograma do primeiro experimento.

Seleção dos voluntários

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FORP-USP (processo: 2010.1.552.58.7).

Foram selecionados 14 voluntários de ambos os sexos e faixa etária entre 22 e 40 anos. Como critérios de inclusão os voluntários deveriam apresentar fluxo salivar normal, ausência de lesões de cárie ativa, pH tampão salivar entre 6,5 e 7,0, e disponibilidade para seguir a programação estabelecida para o experimento. Os voluntários que apresentassem doenças sistêmicas e distúrbios de ordem digestiva, grávidas, fumantes, ou voluntários que estivessem sobre tratamento de quimioterapia, radioterapia ou fizessem uso de medicamentos que interferissem na secreção salivar, foram excluídos do estudo.

Cada voluntário teve sua arcada superior e inferior moldada para a confecção dos dispositivos intraorais em resina acrílica autopolimerizável. Foram preparados dois nichos (um de cada lado), na superfície externa dos dispositivos, medindo 7 x 7

x 3 mm, para a fixação dos fragmentos de esmalte, realizada com cera, 1 mm abaixo da borda do dispositivo palatino para evitar a abrasão pelo contato com a superfície da língua.

Preparação dos espécimes de esmalte

Incisivos bovinos recém extraídos, mantidos em solução de timol 0,1% à temperatura de 4°C (DOMINICI et al., 2001), foram limpos com o auxílio de pedra pomes e água com escovas de Robinson e examinados através de estereomicroscópio (Leica S6 D Stereozoom, Leica Microsystems AG, Suíça) com aumento de 40X, descartando-se aqueles com trincas ou anomalias de estrutura. As raízes foram removidas 2 mm abaixo da junção amelocementária com um disco flexível diamantado (15HC, Buehler, Alemanha) montado em cortadeira elétrica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Alemanha). Posteriormente, as coroas dos dentes foram seccionadas, de forma a obter dois fragmentos por dente com dimensões de 5 x 3 x 2,5mm.

Após a secção dos fragmentos, os mesmos foram planificados e polidos em politriz refrigerada a água (Phonix β, Buehler, EUA), com auxílio de um cabeçote para padronização do procedimento. Inicialmente os fragmentos de esmalte foram fixados em matrizes de teflon com auxílio de um paralelômetro (ElQuip, São Carlos/SP, Brasil) para planificação da parede pulpar, por meio de uma lixa de óxido de alumínio com granulação de #600 (Norton Abrasivos Ltda, SP, Brasil), aplicada por 20 segundos com força padronizada de 20 N. Após a planificação da parede pulpar, os espécimes foram removidos da matriz e novamente fixados para planificação e polimento da superfície de esmalte. Foram empregadas lixas de óxido de alumínio (Norton Abrasivos Ltda, SP, Brasil) com granulações decrescentes (#600 e #1200) sob carga padronizada de 20 N pelo tempo de 20 segundos, e suspensão de alumina 0,3 μm (Buehler, EUA) em disco de feltro (Buehler, EUA), sob carga padronizada de 20 N pelo tempo de 60 segundos.

Antes de serem submetidos aos desafios erosivos para formação de lesões de erosão iniciais, os fragmentos de esmalte bovino foram esterilizados (VIANA et al., 2010) e excluídos aqueles que apresentaram trincas após a esterilização.

Para que fosse obtida uma amostra padronizada, durante a seleção dos fragmentos foram realizadas 3 leituras de microdureza no centro do espécime, com 100 μm de distância entre cada uma delas (HARA et al., 2006) utilizando o

microdurômetro HMV- 2000 (Shimadzu Corporation, Tóquio, Japão) com penetrador de diamante para dureza Knoop (KHN) e célula de carga de 25 gramas durante 5 segundos (MAGALHÃES et al., 2007). A média das 3 medidas foi utilizada como o valor de microdureza do fragmento (KHN= ± 330), e foram descartados aqueles que apresentaram valores médios 10% acima ou abaixo da média.

Posteriormente, os espécimes foram impermeabilizados com esmalte de unha (Colorama, Maybelline, Brasil) ácido-resistente em três camadas, exceto na superfície vestibular.

A superfície vestibular foi então dividida em quatro áreas distintas: 1. hígida, 2. erosão inicial, 3. tratamento (irradiado ou não irradiado com laser de Er:YAG), 4. após fase *in situ*. A primeira área delimitada no espécime foi coberta com resina composta Filtek Z250 (3M/ESPE, St Paul, MN, USA) com auxílio de uma espátula de resina, sem condicionamento ácido e aplicação do sistema adesivo (Figura 1- F), possibilitando que cada amostra apresentasse uma área de referência hígida, sem sofrer nenhum tipo de tratamento ou desafio erosivo. A polimerização da resina composta foi realizada através do emprego de uma fonte de luz halógena (Dabi Atlante - Indústrias Médico Odontológicas, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil)

Formação de lesões de erosão

Com o intuito de simular lesões erosivas já existentes, os espécimes foram submetidos a dois desafios erosivos (8:00 e 13:00 h) em 20mL de ácido cítrico 1% (pH 2,3) durante 5 minutos, por um período de dois dias. Estes desafios foram realizados sob agitação (CT155, Cientec, Piracicaba, SP, Brasil) com velocidade de 100 rpm. Após cada desafio erosivo, os espécimes foram enxaguados por 10 segundos com água deionizada e armazenados em 10 mL de saliva artificial (pH 7) a 37°C entre os desafios erosivos e durante a noite. A saliva utilizada foi a descrita por McKnight-Hanes e Whitford (1992) e modificada por Amaechi, Higham e Edgar (1999a). A saliva apresentava em sua composição metilhidroxibenzoato (2,0 g), carboximetilcelulose (10,0 g), KCl (0,625 g); MgCl₂.6H₂O (0,059 g); CaCl₂.2H₂O (0,166 g); K₂HPO₄ (0,804 g); e KH₂PO₄ (0,326 g) em 1000 mL de solução aquosa.

Tratamento Superficial

Após a formação de lesões de erosão, uma camada de resina composta seguindo o mesmo protocolo anteriormente descrito, foi colocada sobre o espécime na área que recebeu desafios erosivos iniciais (Figura 1- I).

Os espécimes foram distribuídos em 2 grupos, de acordo com o tratamento: (I- irradiado com laser de Er:YAG ou II- não irradiado). Metade dos espécimes recebeu em sua superfície de esmalte a aplicação do laser de Er:YAG (Fidelis Er III, Fotona, Ljubljana, Slovenia- Processo FAPESP 2011/00272-5). A irradiação foi realizada no modo não-contato (handpiece nº R02-C-1122), desfocado, a 25 mm de distância do substrato, com auxílio de um marcador de passo automático que permite irradiação uniforme de toda a área de modo padronizado. A densidade de energia empregada foi de 5,2 J/cm², 85 mJ de energia de pulso, 2 Hz de frequência, diâmetro do spot do laser de 0,9 mm, sob refrigeração (3,0 mL/min). Cada espécime foi irradiado por aproximadamente 10 segundos. Os espécimes que não receberam tratamento com laser de Er:YAG foram mantidos em umidade relativa a 37°C durante a irradiação do grupo experimental. Após a realização dos tratamentos superficiais, uma camada de resina composta foi colocada sobre o espécime na área delimitada como tratamento (irradiado com laser de Er:YAG ou não irradiado). (Figura 1- K).

Instalação dos dispositivos e fase intraoral

Inicialmente, foi verificada a adaptação intrabucal dos dispositivos nos voluntários, e então posicionados 2 fragmentos de esmalte bovino em cada dispositivo palatino, sendo 1 deles irradiado com laser de Er:YAG e o outro não. (Figura 1- L).

Dois dias antes do início da fase clínica do experimento, os voluntários foram instruídos a utilizar somente a escova dental (Oral-B Indicator 35, Gillette do Brasil Ltda., Brasil) e o dentífrico (Colgate Máxima Proteção Anticáries, Colgate-Palmolive, Divisão da Kolynos do Brasil Ltda., Brasil) fornecidos pelo pesquisador. Após este período, iniciaram-se os desafios erosivos (ácido cítrico) ou não erosivos (água deionizada).

Na primeira fase do experimento (5 dias) caracterizado por um delineamento *crossover* 2x2, metade dos voluntários (n=7) realizou desafios erosivos com ácido cítrico (pH 2,3) e a outra metade realizou os desafios com água deionizada em

temperatura ambiente. Esses desafios iniciaram-se apenas no segundo dia de uso do dispositivo para permitir a formação de película adquirida (HUYSMANS et al., 2011).

Os desafios foram realizados extraoralmente 3 vezes ao dia em horários pré-determinados (8:00, 12:00 e 16:00h). Cada desafio consistiu na remoção do dispositivo da cavidade bucal e imersão em 100 mL da solução a ser testada em cada fase, durante 5 minutos (HUYSMANS et al., 2011). Após os desafios, o dispositivo foi enxaguado com água corrente por 1 minuto antes de ser reposicionado na cavidade bucal.

Após um período de *wash-out* de 15 dias foi iniciada a segunda fase do experimento, onde novos fragmentos de esmalte foram montados nos dispositivos palatinos e os voluntários foram cruzados quanto ao desafio realizado.

Os voluntários utilizaram o dispositivo palatino de forma contínua, inclusive durante a noite, removendo-o somente durante as refeições e quando fosse feita a higiene oral. A fim de evitar a formação de biofilme nos espécimes, os voluntários foram instruídos a gotejar solução de clorexidina 0,2 % (Bioquanti manipulação, Ribeirão Preto, SP, Brasil) sobre os espécimes durante 1 minuto ao final de cada dia do experimento (WEST et al., 1998).

Perfilometria Óptica

Ao final do experimento *in situ*, toda a resina composta foi removida, de forma que os espécimes tiveram expostas as 4 áreas distintas: hígida, erosão inicial, tratamento (irradiados ou não irradiados), após fase *in situ* (Figura 1- N).

A determinação do desgaste foi determinada com o auxílio de um perfilômetro óptico 3D (PS50 Optical Profilometer, Nanovea, Irvine, Califórnia). Esse aparelho permitiu realizar um escaneamento sobre uma área de 4 mm de comprimento (eixo x) por 1,5 mm de largura (eixo y). Foi verificada a média das três leituras de cada área (erosão inicial, tratamento da superfície e após fase *in situ*) comparadas a área controle (hígida). A perda de estrutura correspondeu à medida (em μm) do ponto mais inferior do gráfico em relação à superfície referencial, utilizando-se um recurso do próprio programa de computador.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após as leituras finais de perfilometria, foram selecionados aleatoriamente para esta análise 3 espécimes de cada grupo. Os fragmentos foram colocados nos frascos de Eppendorff com água destilada e preparados de acordo com o seguinte protocolo: limpeza em ultra-som (UltrasonicCleaner T-1449-D, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 10 minutos; imersão em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com solução de cacodilato de sódio AA 0,1 M com pH 7,4 (Merck KGaA, Darmstadt, D-64293, Alemanha) em temperatura de 4°C por 12 horas; lavagem com água destilada por 3 minutos, seguida de imersão em água destilada por 1 hora, com trocas a cada 20 minutos; desidratação em graus ascendentes de etanol (Labsynth Ltda., Diadema, SP, Brasil): 25% (20 min), 50% (20 min), 75% (20 min), 95% (30 min), 100% (60 min). Após a secagem, os corpos-de-prova foram fixados em stubs com fita dupla-face de carbono e a cobertura com ouro foi realizada em aparelho de metalização a vácuo (Bal-Tec, SCD 050 SputterCoater, Fürstentum, Liechtenstein). Os espécimes foram levados ao microscópio eletrônico de varredura (Zeiss, EVO 50, Cambridge, Inglaterra) onde foi realizada a varredura de toda a superfície do espécime e, em seguida, a área mais representativa de cada grupo foi fotografada com aumento de (X3000).

Análise estatística

Para a análise estatística, a média dos valores de desgaste para cada espécime foi considerada. Para verificar a normalidade dos dados, foi realizado o Teste Kolmogorov-Smirnov. Como a distribuição foi normal os dados foram analisados através da Análise de Variância (ANOVA) a dois critérios utilizando a irradiação com laser de Er:YAG (irradiado ou não irradiado) e os tipos de desafios (erosivo ou não erosivo). Múltiplas comparações foram realizadas por meio do teste de complementar de Tukey para verificar a diferença entre os grupos. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SPSS 12.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) com nível de significância de 5%.

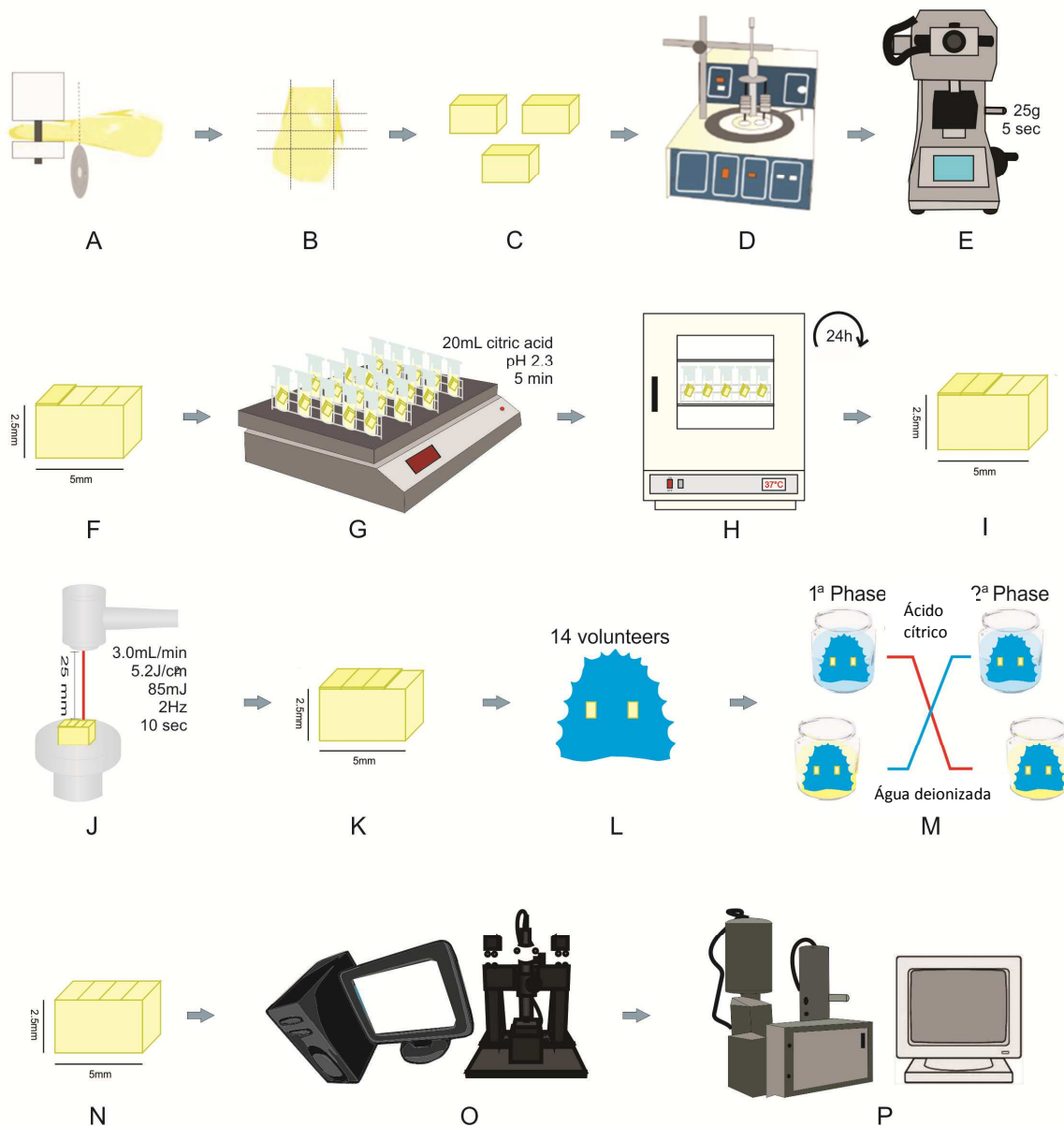


Figura 1: Fluxograma do experimento 1. A. Remoção da raiz bovina 2 milímetros abaixo da junção cimento-esmalte; B. Secção das coroas; C. Obtenção dos fragmentos de esmalte (5x3x2,5mm); D. Planificação e polimento dos espécimes; E. Análise de microdureza inicial (baseline); F. Delimitação da primeira área (hígida); G. Desafio erosivo inicial; H. Armazenamento do espécime em saliva artificial a 37 ° C; I. Delimitação da segunda área (lesões erosivas iniciais); J. Irradiação com laser de Er:YAG; K. Delimitação da terceira área (tratamento); L. Montagem dos dispositivos palatinos; M. Fase *in situ* (desafios ex vivo); N. Remoção das áreas delimitadas no espécime; O. Análise de perfilometria óptica 3D; P. Análise de microscopia eletrônica de varredura.

3.2. Experimento 2

Delineamento experimental

O segundo estudo *in situ* foi realizado de acordo com um delineamento *split mouth*, em uma fase de 5 dias. Os fatores em estudo foram tratamento de superfície em 2 níveis: irradiados com laser de Er:YAG (5,2 J/cm², 2 Hz, 85 mJ, 10 segundos) e não irradiados, e subdivididos de acordo com o tipo de desgaste em 2 níveis: erosivos (ácido cítrico) e erosivos associados a abrasão (ácido cítrico + escovação). A amostra do experimento teve 48 fragmentos de esmalte bovino, aleatoriamente distribuídos entre 12 voluntários, considerados blocos estatísticos. A variável de resposta foi obtida através da análise de desgaste (μm) por meio de perfilometria óptica 3D. A análise qualitativa dos resultados foi realizada através da análise morfológica da superfície de esmalte por meio de microscopia eletrônica de varredura, em 3 espécimes de cada grupo selecionados aleatoriamente. A figura 2 representa o fluxograma do segundo experimento.

Seleção dos voluntários

A seleção dos voluntários bem como os aspectos éticos foi conduzida conforme descrito para o experimento 1. Na confecção dos dispositivos intrabucais, foram preparados quatro nichos medindo 7 x 7 x 3 mm na superfície externa dos dispositivos (2 de cada lado), para a fixação dos fragmentos de esmalte.

Preparação dos espécimes de esmalte, formação de lesões de erosão e tratamento superficial

Tais procedimentos foram realizados conforme descrito anteriormente para o experimento 1.

Instalação dos dispositivos e fase intraoral

Inicialmente, foi verificada a adaptação intrabucal dos dispositivos nos voluntários, e então posicionados 4 fragmentos de esmalte bovino em cada dispositivo palatino (2 de cada lado), sendo 1 deles irradiado com laser de Er:YAG e o outro espécimes não irradiados). Os espécimes foram fixados com cera, 1 mm abaixo da borda do dispositivo palatino para evitar a abrasão pelo contato com a superfície da língua.

Dois dias antes do início da fase clínica do experimento, os voluntários foram instruídos a utilizar somente a escova dental (Oral-B Indicator 35, Gillette do Brasil Ltda., Brasil) e o dentífrico (Colgate Máxima Proteção Anticáries, Colgate-Palmolive, Divisão da Kolynos do Brasil Ltda., Brasil) fornecidos pelo pesquisador. Após este período, iniciaram-se os desafios erosivos ou erosivos associados a desafios abrasivos na superfície dos espécimes de esmalte.

Os desafios erosivos foram realizados extraoralmente 3 vezes ao dia (8:00, 12:00 e 16:00 h) através da imersão de todo o dispositivo palatino em 100 mL da solução de ácido cítrico, durante 5 minutos (HUYSMANS et al., 2011) e enxaguados com água deionizada por 1 minuto antes de ser reposicionado na cavidade bucal. Esses desafios iniciaram-se apenas no segundo dia de uso do dispositivo para permitir a formação de película adquirida (HUYSMANS et al., 2011).

O desgaste abrasivo foi realizado 1 hora após os desafios erosivos, através da escovação padronizada dos espécimes de um dos lados do aparelho (direito ou esquerdo), definido por sorteio para cada um dos voluntários. Os espécimes foram escovados extraoralmente, com auxílio de escova dental elétrica de cerdas macias e pontas arredondadas (MAGALHÃES et al., 2008) (Oral B Pro Saude, Gillette do Brasil Ltda., Brasil) e *slurry* de dentífrico fluoretado na proporção de 3 g de dentífrico para 10 mL de água (HOOPER et al., 2007) (Colgate Máxima Proteção Anticáries, Colgate-Palmolive, Divisão da Kolynos do Brasil Ltda., Brasil). A escova foi acoplada a um dispositivo que fixa a escova dental elétrica durante os movimentos de escovação, permitindo uma força padronizada de 1,5 N (ROCHEL et al., 2011) durante os 15 segundos de escovação (MAGALHÃES et al., 2008) em cada um dos espécimes. Este procedimento foi realizado 3 vezes por dia, em horários pré-estabelecidos (9:00, 13:00 e 17:00 h). Os voluntários foram treinados e instruídos individualmente para realizar este procedimento.

Os voluntários utilizaram o dispositivo palatino de forma contínua, inclusive durante a noite, removendo-o somente durante as refeições e quando fosse feita a higiene oral. A fim de evitar a formação de biofilme nos espécimes, os voluntários foram instruídos a gotejar solução de clorexidina 0,2% (Bioquanti manipulação, Ribeirão Preto, SP, Brasil) sobre os espécimes durante 1 minuto ao final de cada dia do experimento (WEST et al., 1998).

Perfilometria Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura

As análises de perfilometria óptica e microscopia eletrônica de varredura foram realizadas conforme descrito para o experimento 1.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram avaliados através do teste estatístico adequado, após análise exploratória dos dados, de forma independente da análise estatística realizada para o experimento 1.

A análise dos dados foi realizada por meio do programa SPSS 12.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA), com nível de significância de 5%. Foi realizado o teste normalidade de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade dos dados. Como a distribuição não foi normal as médias foram calculadas e os dados foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis utilizando como fatores de comparação a irradiação laser: irradiado ou não irradiado, e o tipo de desafio: erosivos ou erosivos associado a abrasão. Múltiplas comparações foram realizadas através do teste de Mann-Whitney.

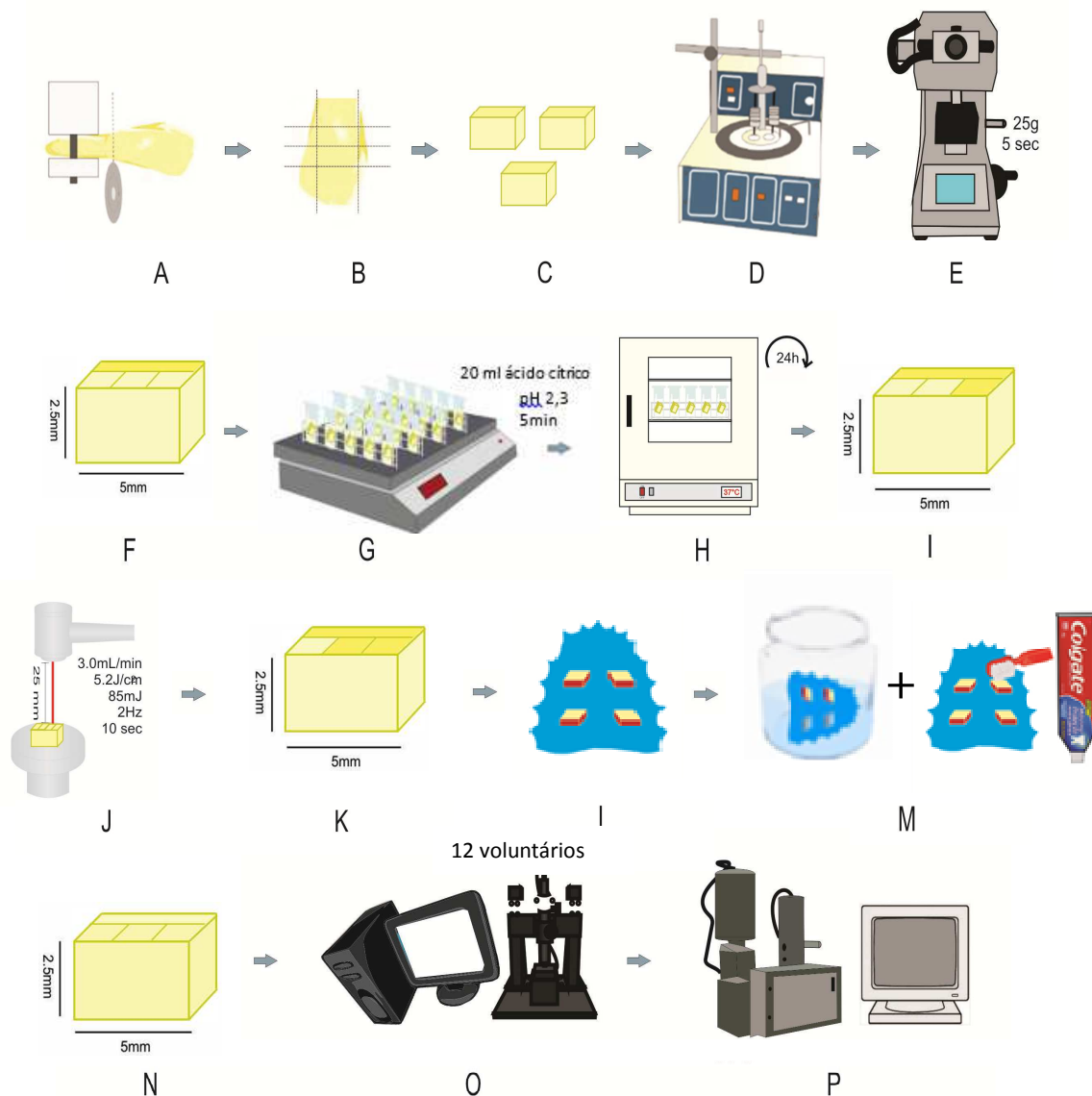


Figura 2: Fluxograma do experimento 2. A. Remoção da raiz bovina 2 milímetros abaixo da junção cimento-esmalte; B. Secção das coroas; C. Obtenção dos fragmentos de esmalte (5x3x2,5mm); D. Planificação e polimento dos espécimes; E. Análise de microdureza inicial (baseline); F. Delimitação da primeira área (hígida); G. Desafio erosivo inicial; H. Armazenamento do espécimes em saliva artificial a 37 ° C; I. Delimitação da segunda área (lesões erosivas iniciais); J. Irradiação com laser de Er:YAG; K. Delimitação da terceira área (tratamento); L. Montagem dos dispositivos palatinos; M. Fase *in situ* (desafios erosivos e abrasivos); N. Remoção das áreas delimitadas no espécime; O. Análise de perfilometria óptica 3D; P. Análise de microscopia eletrônica de varredura.

Resultados

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1

A análise de variância (ANOVA) a dois critérios revelou uma diferença significativa entre os grupos. Após o término da fase intraoral, os grupos que utilizaram água deionizada mostraram menor desgaste quando comparado com os grupos que foram erodidos com ácido cítrico, independente de terem sido irradiados com laser de Er:YAG ou não. No entanto, quando erodidos na fase intraoral, o grupo irradiado com laser de Er:YAG não diferiu do grupo não irradiado. Depois da erosão inicial e após o tratamento (irradiado ou não com laser de Er:YAG), não foi observada diferença significativa de perda de esmalte entre os grupos. (Tabela 1).

Tabela 1. Médias (desvio padrão) da perda de estrutura de esmalte (μm) em diferentes condições experimentais

Áreas analisadas \ Condições	Não irradiado/ Erodido na fase intraoral	Não irradiado/ Não erodido na fase intraoral	Irradiado/ Erodido na fase intraoral	Irradiado/ Não erodido na fase intraoral
Hígido – Erosão Inicial	12,82 (3,04) aA	13,17 (2,36) aA	13,39 (3,70) aA	13,75 (1,91) aA
Hígido – Tratamento	13,65 (3,29) aA	13,58 (2,93) aA	14,40 (5,63) aA	13,76 (3,48) aA
Hígido – Final da fase <i>in situ</i>	36,5 (11,43) bA	14,67 (4,35) aB	33,77 (14,84) bA	14,14 (4,13) aB

* Letras minúsculas – indicam análise estatística entre linhas ** Letras maiúsculas – indicam análise estatística entre colunas

Análise de microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas por meio de análise de MEV mostraram que a irradiação dos espécimes com laser de Er:YAG promoveu pequenas alterações na morfologia dos prismas do esmalte previamente expostas ao desafio erosivo (Figura 3 - C). Quando submetidos a desafios erosivos *in situ*, os espécimes previamente irradiados com o laser de Er:YAG apresentaram um padrão de desmineralização mais uniforme (Figura 3 - E). As amostras não irradiadas mostraram uma maior desmineralização da região inter-prismática, com a remoção da região da cabeça dos prismas de esmalte (Figura 3 - F). Os espécimes que não foram submetidos a desafios erosivos com ácido cítrico durante a fase *in situ* (irradiados ou não com o laser de Er:YAG) parecem mostrar uma remineralização das áreas expostas pelo ácido cítrico (Figura 3 - G e H).

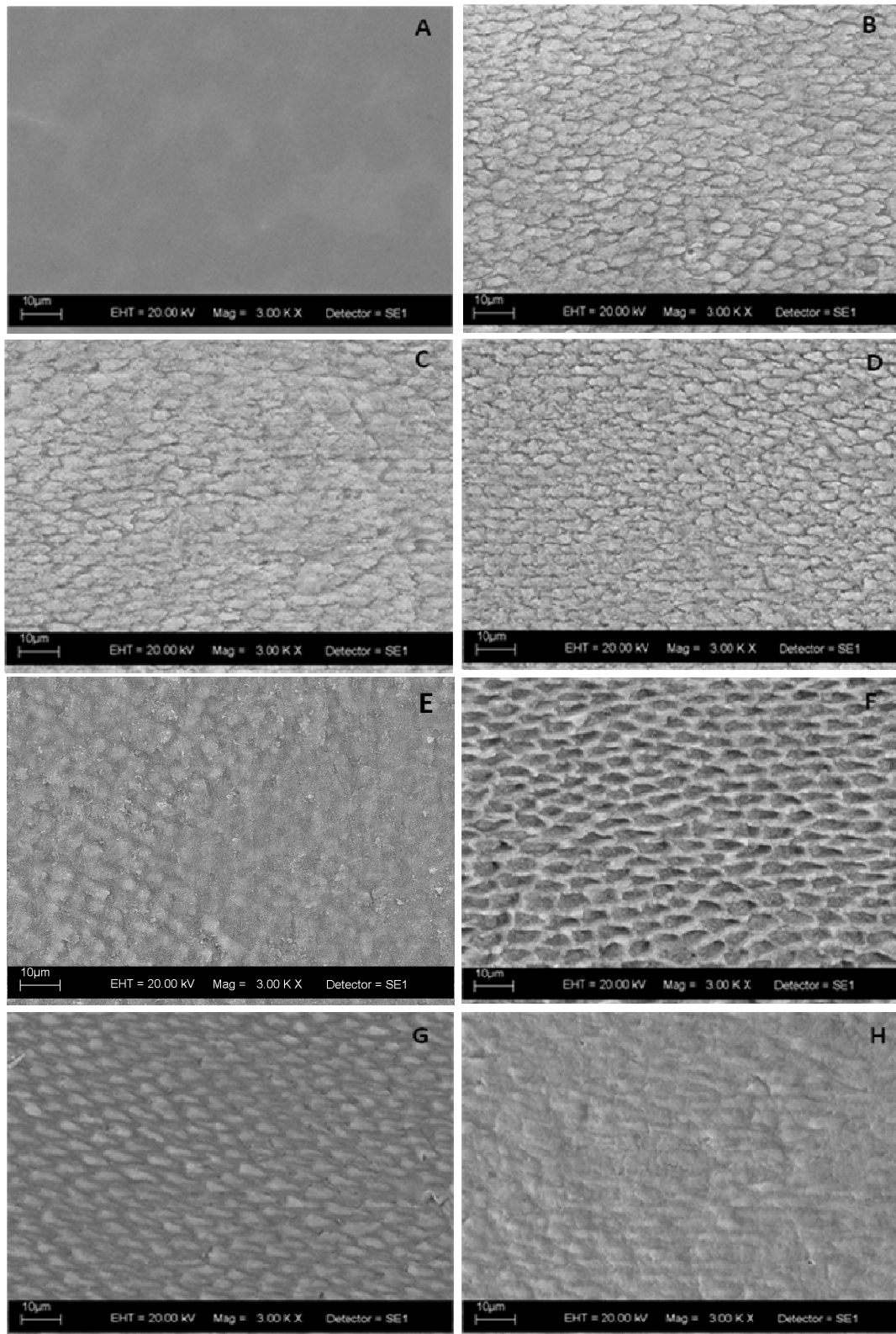


Figura 3: Imagens representativas da análise de MEV do experimento 1. A. Superfície hígida; B. Superfície erodida inicialmente; C. Superfície irradiada com laser de Er:YAG; D. Superfície não-irradiada; E. Superfície irradiada com laser de Er:YAG e erodida na fase *in situ*; F. Superfície não irradiada e erodida na fase *in situ*; G. Superfície irradiada com laser de Er:YAG e não erodida na fase *in situ*; H. Superfície não irradiada com laser de Er:YAG e não erodida na fase *in situ*.

4.2. Experimento 2

Análise de perfilometria

A análise dos dados mostrou diferença estatística significativa entre os grupos após a fase *in situ*. Após os desafios erosivos e abrasivos, o grupo que foi irradiado com laser de Er:YAG apresentou menor desgaste quando comparados com o grupo que não foi irradiado. O grupo que sofreu apenas erosão e foi irradiado com laser de Er:YAG não diferiu significativamente quanto aos valores de desgaste do grupo não irradiado e erodido. Após a erosão inicial e após o tratamento (não irradiado ou irradiados com laser Er:YAG), não foi observada nenhuma diferença significativa de perda de esmalte entre os grupos. (Tabela 2)

Tabela 2. Médias (desvio padrão) da perda de estrutura de esmalte (μm) em diferentes condições experimentais

Áreas analisadas \ Condições	Não irradiado/ Erodido na fase intraoral	Não irradiado/ Erodido e abrasionado na fase intraoral	Irradiado/ Erodido na fase intraoral	Irradiado/ Erodido e abrasionado na fase intraoral
Hígido – Erosão Inicial	13,71(3,40) aA	14,50(3,81) aA	14,31(4,03) aA	11,98(2,72) aA
Hígido – Tratamento	13,49(3,75) aA	15,48(3,66) aA	14,80(5,03) aA	12,84(4,13) aA
Hígido – Final da fase <i>in situ</i>	31,69(10,68) bA	37,36(10,60) bB	34,22(11,04) bA	33,10(9,20) bA

*Letras minúsculas – indicam análise estatística entre linhas ** Letras maiúsculas – indicam análise estatística entre colunas

Análise de microscopia eletrônica de varredura

Na análise de MEV pode-se observar que a imersão em ácido cítrico por 5 minutos, 3 vezes ao dia, por 2 dias, promoveu exposição dos prismas de esmalte (Fig 4 - B). Quando este substrato previamente erodido recebeu irradiação com laser de Er:YAG, foram observadas alterações na morfologia dos prismas do esmalte, porém, apenas em algumas regiões do espécime (Figura 4 - C). Quando submetidos posteriormente a desafios erosivos *in situ*, os espécimes previamente irradiados com laser de Er:YAG (Fig 4 - E) apresentaram características semelhantes aos espécimes não irradiados (Fig 4 - F), demonstrando uma desmineralização uniforme de toda a superfície através da dissolução dos prismas. Os espécimes que foram submetidos a desafios erosivos e abrasivos durante a fase *in situ* e não foram irradiados com laser de Er:YAG (Fig 4 - H), demonstraram imagens semelhantes de desmineralização aos espécimes que sofreram apenas desafios erosivos (irradiados e não irradiados com laser de Er:YAG). Nos espécimes que foram erodidos e

abrasionados e receberam tratamento com laser de Er:YAG (Fig 4 - G), observou-se prismas de esmalte similares aos prismas da área erosão inicial.

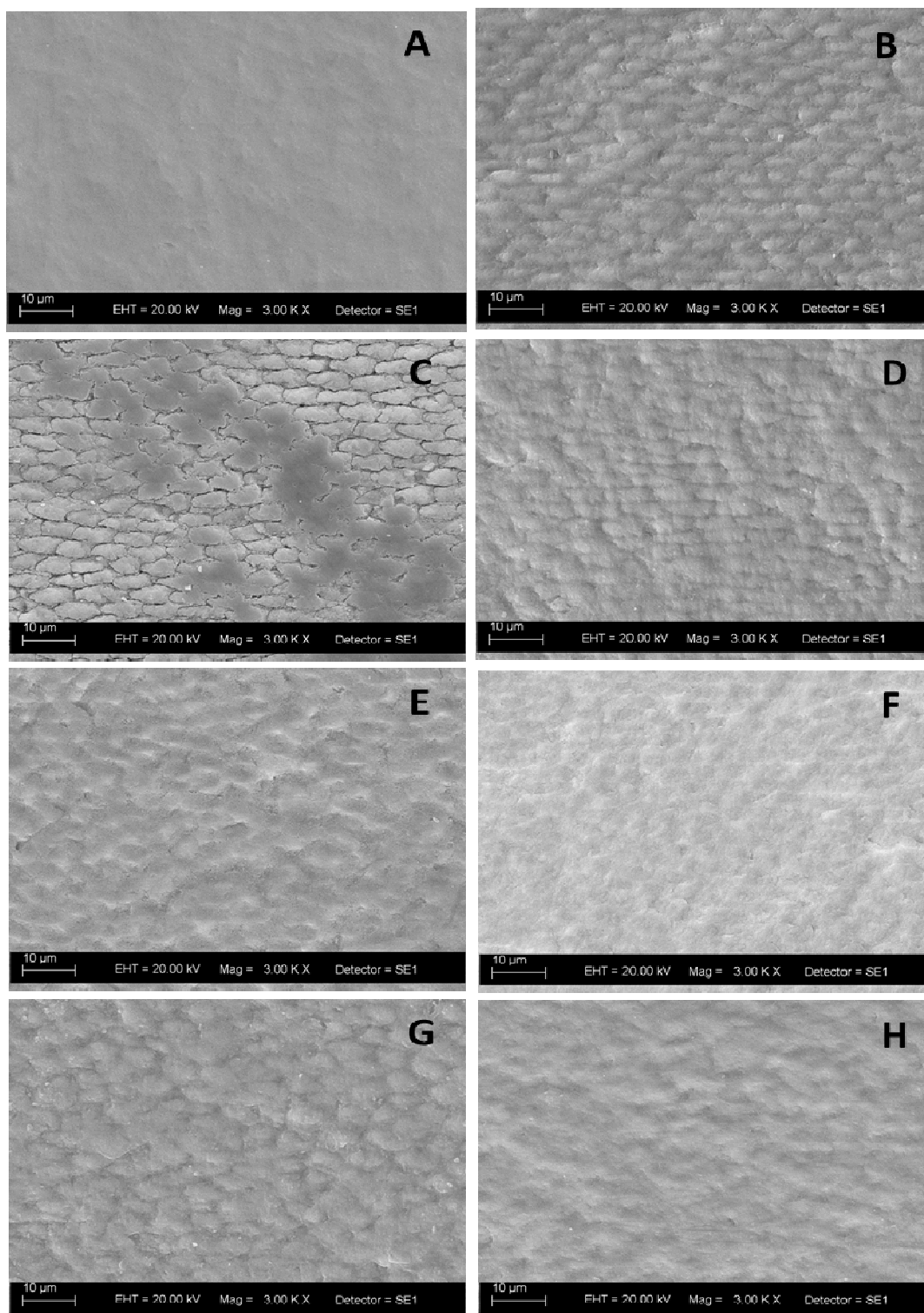


Figura 4: Imagens representativas da análise de MEV do experimento 2. A. Superfície hígida; B. Superfície erodida inicialmente; C. Superfície irradiada com laser de Er:YAG; D. Superfície não irradiada; E. Superfície irradiada com laser de Er:YAG e erodida na fase *in situ*; F. Superfície não irradiada e erodida na fase *in situ*; G. Superfície irradiada com laser de Er:YAG e erodida+abrasionada na fase *in situ*; H. Superfície não irradiada com laser de Er:YAG e erodida+abrasionada na fase *in situ*.

Discussão

5. DISCUSSÃO

O laser de Er:YAG (2,94 μm) tem sido estudado na prevenção da desmineralização do esmalte, demonstrando resultados positivos quando submetido a desafios cariogênicos (CASTELAN et al., 2007; CECCHINI et al., 2005; COLUCCI et al., 2014; CORREA AFONSO et al., 2010; HOSSAIN et al., 2000; LIU et al., 2013;), mas pouco se sabe se o esmalte dental irradiado reagiria da mesma maneira quando submetido a ação de agentes erosivos e abrasivos.

Baseado nos resultados deste estudo, avaliando o efeito do laser de Er:YAG apenas frente aos desafios erosivos, pode-se verificar que não houve um aumento da resistência ácida pela irradiação, concordando com os resultados dos estudos de Altinok et al. (2011) e Dos Reis Dercelli et al. (2013). O uso de parâmetros de energia subablativos permite que se faça uma irradiação segura, capaz de conseguir temperaturas entre 100 e 650°C, que podem levar a redução de água e carbonato que são suficientes para mudar a cristalinidade do esmalte (FOWLER; KURODA, 1986). Deng e Hsu (2005) observaram a redução de carbonato quando os espécimes de esmalte foram irradiados com energias de 5,1 J/cm², similares a energia empregada em nosso estudo (5,2 J/cm²). Pode ser que a refrigeração de 3mL/min utilizada neste estudo, tenha causado uma redução da temperatura na superfície do tecido, podendo esta não ter sido suficiente para causar alterações químicas no esmalte, levando apenas a modificações na morfologia.

De acordo com Delbem et al. (2003), baixas densidades de energia aplicadas por um curto período de tempo, pode causar apenas o aquecimento de água, vaporização e pressão no interior do esmalte, sem promover fusão ou recristalização na estrutura do esmalte, concordando com as imagens observadas por microscopia eletrônica de varredura em ambos os experimentos. As imagens mostraram apenas pequenas mudanças na superfície do esmalte quando irradiados com laser Er:YAG, mas sem promover a fusão ou recristalização.

No segundo experimento, metade dos espécimes foram submetidos a abrasão 1 hora após os desafios erosivos, e o grupo que utilizou laser de Er:YAG não apresentou aumento nos valores de desgaste, diferentemente do grupo que não recebeu a irradiação com laser de Er:YAG, que após ser abrasionado apresentou um aumento significativo no desgaste do esmalte em relação ao grupo apenas erodido.

A irradiação com laser Er:YAG pode causar alterações morfológicas na superfície de esmalte, como por exemplo um aumento da rugosidade do tecido, que pode ter contribuído para uma maior retenção de CaF_2 (ANA et al., 2012; ZAMATARO et al., 2013) do dentífrico fluoretado, deixando assim a superfície mais resistente aos desafios erosivos subsequentes (RIOS et al., 2008). Frente a processos erosivos, o acúmulo de CaF_2 na superfície pode funcionar como uma barreira mecânica (VIEIRA et al., 2007) e também ao dissociar-se, libera íons flúor que se complexam com íons hidrogênio da substância ácida, minimizando seu potencial em promover a desmineralização superficial (LUSSI; HELLWIG, 2006). No estudo de Zamataro et al. (2013) utilizando o laser de Er,Cr:YSGG, foi observado uma maior formação de CaF_2 quando o dentífrico fluoretado foi aplicado após a irradiação a laser, o que pode ter ocorrido neste estudo. A literatura também mostra que outras alterações na morfologia do esmalte, como a formação de microporos ou microfissuras causadas pela irradiação com laser, pode melhorar a formação e retenção de fluoretos (CHIN-YING et al, 2004; ZHANG; KIMURA; MATSUMOTO, 1996).

Os procedimentos de escovação foram simulados com dentífricos na forma de *slurry*, simulando a diluição realizada pela saliva durante a escovação. Turssi et al. (2010) relatou que o uso de *slurry* permite um menor desgaste de dentina em relação ao uso de dentífricos não diluídos, o que pode ter contribuído também para os resultados deste estudo, realizado em esmalte. O tempo de espera da escovação, 1 hora após os desafios erosivos também impediram que a estrutura dental amolecida sofresse um efeito imediato da abrasão pela escovação. Este tempo de espera pode permitir que a saliva exerça sua ação remineralizante no esmalte previamente erodido, diminuindo o processo abrasivo (ATTIN et al., 2000; RIOS et al., 2006).

Nas imagens de MEV do segundo experimento, pode-se observar que os espécimes não irradiados e que foram apenas erodidos, apresentaram um padrão de desmineralização com dissolução dos primas. Após os procedimentos abrasivos observou-se uma superfície de esmalte mais homogênea, provavelmente devido a remoção da camada superficial alterada dos prismas, assim como descreve Rios et al. (2008), o que pode ter contribuído pra um aumento do desgaste, diferentemente do grupo que foi tratado com laser de Er:YAG e posteriormente foi erodido e abrasionado.

Estudos *in vitro* têm demonstrado um alto potencial erosivo do ácido cítrico, porém, se comparado com estudos *in vivo* e *in situ*, estes valores poderiam ser inferiores devido à presença de fatores salivares (AMAECCHI et al., 1999b). Neste estudo *in situ*, os desafios erosivos começaram apenas no segundo dia do uso dos dispositivos intraorais, para permitir que a saliva entre em contato com as amostras dentais para formar a película adquirida, capaz de proteger a superfície do dente de um contato direto com o ácido (MAGALHÃES et al., 2009).

Neste estudo, uma análise perfilométrica, considerada padrão ouro para quantificar perda de estrutura (HALL et al., 1997), foi realizada por meio de um perfilômetro sem contato, permitindo minimizar erros nos resultados ao analisar superfícies amolecidas (BARBOUR; REES, 2004). Para quantificar este desgaste por meio de perfilometria, as superfícies devem ser planificadas e polidas, e isto pode ter influência sobre a susceptibilidade do esmalte ao ácido (MEURMAN; FRANDK, 1991; GANSS; KLIMEK; SCHWARZ, 2000). Hjorstjo et al. (2010) afirmam que a planificação deve ser realizada em 90 ° para os prismas de esmalte, mas devido à curvatura dos dentes, isso pode ser difícil de ser conseguido, e as amostras acabam tendo diferentes exposições dos prismas de esmalte ao ácido.

A escolha de ácido cítrico como agente erosivo, bem como a análise de perfilometria como variável de resposta, tem sido empregue em estudos sobre erosão (SCHLUETER et al, 2010; HUYSMANS et al, 2011), com resultados positivos na redução da erosão dos dentes humanos.

Embora o laser de Er:YAG parece ter induzido alterações morfológicas sobre a superfície do esmalte, formando uma camada mais homogênea observada por microscopia eletrônica de varredura, quando avaliada por perfilometria o tratamento não mostrou eficácia na redução da progressão de lesões erosivas em esmalte submetido a desafios erosivos por meio de ácido cítrico. Porém, quando submetidos a posterior abrasão com dentifrício fluoretado, a irradiação com laser de Er:YAG pode ter promovido mudanças na morfologia do esmalte, capazes de promover uma maior retenção de CaF₂, que auxiliou no controle do desgaste por processos abrasivos.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Considerando a metodologia utilizada e os dados obtidos, pode-se concluir que:

- A irradiação com laser de Er:YAG não foi capaz de controlar a progressão das lesões de erosão em esmalte causadas por ácido cítrico, porém controlou a progressão de lesões abrasivas no esmalte previamente erodido.

*Referências
Bibliográficas*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALTINOK, B. et al. The effect of laser-activated acidulated phosphate fluoride on enamel submitted to erosive solution only: an in vitro preliminary evaluation. **European Journal of Paediatric Dentistry**, v.12, n.1, p.13-16, 2011.
2. AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W. M. Techniques for the production of dental eroded lesions *in vitro*. **Journal of Oral Rehabilitation**, v.26, n.2, p.97-102, 1999a.
3. AMAECHI, B. T. et al. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. **Journal of Dental Research**, v.78, n.12, p.1821-1828, 1999b.
4. ANA, P. A. et al. Effect of Er,Cr:YSGG laser and professional fluoride application on enamel demineralization and on fluoride retention. **Caries Research**, v.46, n.5, p.441-451, 2012.
5. ATTIN, T. et al. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. **Caries Research**, v.34, n.1, p.48-52, 2000.
6. ATTIN, T. et al. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. **Archives of Oral Biology**, v.42, n.3, p.243-50, 1997.
7. BARBOUR, M. E.; REES, J. S. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **Journal of Dentistry**, v.32, n.8, p.591-602, 2004.
8. BARTLETT, D. Intrinsic causes of erosion. **Monographs in Oral Science**, v.20, p.119-139, 2006.
9. CASTELLAN, C. S. et al. In vitro evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.25, n.2, p.85-90, 2007.
10. CECCHINI, R. C. et al. Effect of Er:YAG laser on enamel acid resistance: morphological and atomic spectrometry analysis. **Lasers in Surgery and Medicine**, v.37, n.5, p.366-372, 2005.
11. CHIN-YING, S. H. et al. Effects of CO₂ laser on fluoride uptake in enamel. **Journal of Dentistry**, v.32, n.2, p.161-167, 2004.
12. COLUCCI, V. et al. Effect of Er:YAG laser on enamel demineralization around restorations. **Lasers in Medical Science**. 2014. doi 10.1007/s10103-014-1534-3.
13. CORREA-AFONSO, A. M. et al. Influence of the irradiation distance and the use of cooling to increase enamel-acid resistance with Er:YAG laser. **Journal of Dentistry**, v.38, n.7, p.534-540, 2010.
14. CURY, J. A. et al. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. **Brazilian Dental Journal**, v.15, n.3, p.167-174, 2004.
15. DELBEM, A. et al. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ formation and its anti-cariogenic action on human enamel: an in vitro study. **Journal of Clinical Laser in Medicinal Surgery**, v.21, n.4, p.97-201, 2003.
16. DELMÉ, K. I.; DE MOOR, R. J. Scanning electron microscopic evaluation of enamel and dentin surfaces after Er:YAG laser preparation and laser conditioning. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.25, n.5, p.393-401, 2007.
17. DENG, Y.; HSU, C. Combined effect of fluoride and laser on the crystalline structure of human enamel—a pilot study. SPIE 2005 (In press).

18. DÍAZ-MONROY, J. M. et al. Chemical changes associated with increased acid resistance of Er:YAG laser irradiated enamel. **Scientific World Journal**. 2014 doi: 10.1155/2014/501357.
19. DOMINICI, J. T. et al. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. **Journal of Dental Education**, v.65, n.11, p.1278-1280, 2001.
20. DOS REIS DERCELI, J. et al. Effect of pretreatment with an Er:YAG laser and fluoride on the prevention of dental enamel erosion. **Lasers in Medical Science**, 2013. doi 10.1007/s10103-013-1463-6.
21. EISENBURGER, M.; SHELLIS, R. P.; ADDY, M. Comparative study of wear of enamel induced by alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. **Caries Research**, v.37, n.6, p.450-455, 2003.
22. FOWLER, B. O.; KURODA, S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. **Calcified Tissue International**, v.38, n.4, p.197-208, 1986.
23. FOWLER, C. E. et al. Inhibition of enamel erosion and promotion of lesion rehardening by fluoride: a white light interferometry and microindentation study. **The Journal of Clinical Dentistry**, v.20, n.6, p.178-185, 2009.
24. GANSS, C.; KLIMEK, J.; SCHWARZ, N. A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. **Archives of Oral Biology**, v.45, n.10, p.897-902, 2000.
25. HALL, A.F. et al. Application of transverse microradiography for measurement of mineral loss by acid erosion. **Advances in Dental Research**, v.11, n.4, p.420-425, 1997.
26. HARA, A. T. et al. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. **Journal of Dental Research**, v.85, n.7, p.612-616, 2006.
27. HJORTSJÖ, C. et al. Effect of acidic fluoride treatments on early enamel erosion lesions- a comparison of calcium and profilometric analyses. **Archives of Oral Biology**, v.55, n.3, p.229-234, 2010.
28. HOOPER, S. M. et al. The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. **Journal of Dentistry**, v.35, n.6, p.476-481, 2007.
29. HOSSAIN, M. et al. Acquired acid resistance of dental hard tissues by CO2 laser irradiation. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.17, n.5, p.223-226, 1999.
30. HOSSAIN, M. et al. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.19, n.2, p.105-108, 2001.
31. HOSSAIN, M. et al. Caries –preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.18, n.2, p.61-65, 2000.
32. HUYSMANS, M. C. et al. Reduction of erosive wear in situ by stannous fluoride-containing toothpaste. **Caries Research**, v.45, n.6, p.518-523, 2011.
33. HUYSMANS, M. C.; YOUNG, A.; GANSS, C. The role of fluoride in erosion therapy. **Monographs in Oral Science**, v.25, p.230-243, 2014.
34. LARSEN, M. J. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. **Caries Research**, v.35, n.3, p.229-234, 2001.
35. LARSEN, M. J.; RICHARDS, A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. **Caries Research**, v.36, n.1, p.75-80, 2002.

36. LEVY, F. M. et al. Efficacy of TiF₄ and NaF varnish and solution: a randomized in situ study on enamel erosive-abrasive wear. **Clinical Oral Investigation**, v.18, n.4, p.1097-1102, 2014.
37. LIMA, D. M. et al. Human Dental Enamel and Dentin Structural Effects after Er:YAG Laser Irradiation. **J Contemp Dent Pract**, v.15, n.3, p.283-287, 2014.
38. LIU, Y. et al. Subablative Er:YAG laser effect on enamel demineralization. **Caries Research**, v.47, n.1, p.63-68, 2013.
39. LUSSI, A.; HELLWIG, E. Risk assessment and preventive measures. **Monographs in Oral Science**, v.20, p.190-199, 2006.
40. LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Caries Research**, v.38, n.1, p.34-44, 2004.
41. LUSSI, A. et al. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. **Caries Research**, v.45, n.1, p.2-12, 2011.
42. MAGALHÃES, A. C. et al. Influence of fluoride dentifrice on brushing abrasion of eroded human enamel: an in situ/ex vivo study. **Caries Research**, v.41, n.1, p.77-79, 2007.
43. MAGALHÃES, A. C. et al. Effect of different concentrations of fluoride in dentifrices on dentin erosion subjected or not to abrasion in situ/ex vivo. **Caries Research**, v.42, n.2, p.112-116, 2008.
44. MAGALHÃES, A. C. et al. Insights into preventive measures for dental erosion. **Journal Applied of Oral Science**, v.17, n.2, p.75-86, 2009.
45. MAGALHÃES, A. C.; WIEGAND, A.; BUZALAF, M. A. Use of dentifrices to prevent erosive tooth wear: harmful or helpful? **Brazilian Oral Research**, 2014.
46. MANUELA DÍAZ-MONROY, J. et al. Morphological changes produced by acid dissolution in Er:YAG laser irradiated dental enamel. **Microscopy Research and Technique**, v.77, n.6, p.410-414, 2014.
47. MCKNIGHT-HANES, C.; WHITFORD, G. M. Fluoride release from three glass ionomer materials and the effects of varnishing with or without finishing. **Caries Research**, v.26, n.5, p.345-350, 1992.
48. MEURMAN, J. H.; FRANK, R. M. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. **Caries Research**, v.25, n.2, p.81-87, 1991.
49. MURAKAMI, C. et al. Effect of fluoride varnish and gel on dental erosion in primary and permanent teeth. **Archives of Oral Biology**, v.54, n.11, p.997-1001, 2009.
50. RIOS, D. et al. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. **Caries Research**, v.40, n.3, p.218-223, 2006.
51. RIOS, D. et al. Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel. **Brazilian Oral Reserach**, v.22, n.2, p.132-138, 2008.
52. ROCHEL, I. D. et al. Effect of experimental xylitol and fluoride-containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion in vitro. **Journal of Oral Science**, v.53, n.2, p.163-168, 2011.
53. RODRÍGUEZ-VILCHIS, L. E. et al. Acid resistance and structural changes of human dental enamel treated with Er:YAG laser. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.28, n.2, p.207-211, 2010.
54. RODRÍGUEZ-VILCHIS, L. E. et al. Morphological and structural changes on human dental enamel after Er:YAG laser irradiation: AFM, SEM, and EDS evaluation. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.29, n.7, p.493-500, 2011.

55. SCHLUETER, N. et al. Tin and fluoride as antierosive agents in enamel and dentine in vitro. **Acta Odontologica Scandinavica**, v.68, n.3, p.180-184, 2010.
56. SOUZA, B. M. et al. Effect of experimental mouthrinses containing the combination of NaF and TiF₄ on enamel erosive wear in vitro. **Archives of Oral Biology**, v.59, n.6, p.621-624, 2014.
57. STEINER-OLIVEIRA, C. et al. Effect of a pulsed CO₂ laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. **Archives of Oral Biology**, v.55, n.2, p.127-133, 2010.
58. TEN CATE, J. M.; IMFELD, T. Dental erosion, summary. **European Journal of Oral Science**, v.104, n.2, p.241-244, 1996.
59. TURSSI, C. P. et al. Brushing abrasion of dentin: effect of diluent and dilution rate of toothpaste. **American Journal of Dentistry**, v.23, n.5, p.247-250, 2010.
60. VAN RIJKOM, H. et al. Erosion-inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment in vitro. **European Journal of Oral Science**, v.111, n.3, p.253-257, 2003.
61. VIANA, P. S. et al. Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization processes. **Caries Research**, v.44, n.4, p.349-357, 2010.
62. VIEIRA, A. et al. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. **Caries Research**, v.41, n.1, p.61-67, 2007.
63. WANG, X.; LUSSI, A. Assessment and management of dental erosion. **Dental Clinics of North America**, v.54, n.3, p.565-578, 2010.
64. WEST, N. X. et al. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. **Journal of Dentistry**, v.26, n.4, p.329-335, 1998.
65. WIEGAND, A. et al. Effect of Titanium Tetrafluoride and Amine Fluoride Treatment Combined with Carbon Dioxide Laser Irradiation on Enamel and Dentin Erosion. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.28, n.2, p.219-226, 2010.
66. YING, D.; CHUAH, G. K.; HSU, C. Y. Effect of Er:YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. **Journal of Dentistry**, v.32, n.1, p.41-46, 2004.
67. ZAMATARO, C. B. et al. Influence of Er,Cr:YSGG laser on CaF₂-like products formation because of professional acidulated fluoride or to domestic dentifrice application. **Microscopy Research and Technique**, v.76, n.7, p.704-713, 2013.
68. ZERO, D. T. et al. Evaluation of a desensitizing test dentifrice using an in situ erosion remineralization. **The Journal of Clinical Dentistry**, v.17, n.4, p.112-116, 2006.
69. ZHANG, C.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. The effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation with fluoride on root surface. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.14, n.6, p.399-403, 1996.

ANEXO A – Aprovação do comitê de ética

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
Comitê de Ética em Pesquisa



Of. CEP 044/2014

Ribeirão Preto, 11 de fevereiro de 2014.

Ref. processo nº 2010.1.552.58.7

CAAE nº 0039.0.138.000-10

Senhor(a) Pesquisador(a),

Por ordem do Senhor Coordenador, informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 158ª Sessão, realizada em 10/02/2014, **aprovou** o Relatório Parcial bem como a alteração de metodologia do projeto de pesquisa envolvendo seres humanos intitulado **"Efeito do laser de Er:YAG no controle do desgaste do esmalte dental"**.

Salientamos a necessidade de entregar, na Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa, os Relatórios Parciais em **24/06/2014**, **24/12/2014** e **24/06/2015**, e o Relatório Final em **24/12/2015**.

Atenciosamente,

Marcela Scatolin Calache
Marcela Scatolin Calache

Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

APÊNDICE A - Termo de Consentimento utilizado para os participantes da pesquisa

INFORMAÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do Projeto de Pesquisa: “Efeito do laser de Er:YAG no controle do desgaste do esmalte dental”

2. Responsável pela pesquisa: Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona

3. Esclarecimento e obtenção do consentimento:

A apresentação do termo de consentimento livre e esclarecido, bem como a obtenção da autorização para participação dos voluntários será realizada por um profissional não envolvido na presente pesquisa.

4. Justificativa:

A erosão dental apresenta-se de modo bastante frequente na população mundial. Devido a isto, estratégias vêm sendo propostas com objetivo de minimizar esta situação. Sabe-se que alguns lasers apresentam a capacidade de aumentar a resistência dos substratos irradiados frente a erosão ácida, entretanto, nenhum estudo realizado com a colaboração de voluntários verificou a viabilidade de se empregar o laser de Er:YAG para tal finalidade. Além disso, é importante que o dente irradiado com laser de Er:YAG seja resistente a escovação dental para que o efeito protetor seja mantido ao longo do tempo.

5. Objetivos da Pesquisa:

O presente estudo, composto por 2 experimentos, tem por objetivo avaliar, através de um modelo in situ:

- 1) O efeito do laser de Er:YAG no controle da progressão de lesões de erosão no esmalte dental.
- 2) A influência da abrasão nas superfícies erodidas, previamente irradiadas e submetidas ao desafio ácido.

6. Procedimentos que serão realizados durante a pesquisa:

Serão confeccionados aparelhos removíveis de resina acrílica de acordo com o modelo de gesso obtido para cada voluntário. O aparelho ficará em contato com o céu da boca, contendo quatro pedaços de dente bovino esterilizado em cada experimento. Dois dias antes do início do experimento, e durante todo seu período, os voluntários utilizarão exclusivamente a escova e o pasta de dente fornecidos pelos pesquisadores. O experimento 1 terá duas fases de 5 dias cada, com intervalo de 2 dias entre elas. Os voluntários deverão imergir o aparelho removível em 100mL de ácido cítrico 3x ao dia, em horários determinados pelos pesquisadores. Os voluntários continuarão escovando seus dentes normalmente com pasta de dente com flúor. O aparelho removível só poderá ser escovado do lado que fica em contato com o céu da boca. Os pedaços de dente não deverão ser escovados no primeiro estudo. As avaliações serão realizadas pela pesquisadora logo após a retirada dos pedaços de dente do aparelho. O segundo experimento terá apenas uma fase de 5 dias. Serão confeccionados aparelhos removíveis de resina acrílica de acordo com o modelo de gesso obtido para cada voluntário. O aparelho ficará em contato com o céu da boca, contendo quatro pedaços de dente bovino esterilizado em cada experimento. Dois dias antes do início do experimento, e durante todo seu período, os voluntários utilizarão exclusivamente a escova e o pasta de dente fornecidos pelos pesquisadores. Os voluntários deverão imergir o aparelho removível em 100mL de ácido cítrico 3x ao dia, em horários determinados pelos pesquisadores. Os voluntários continuarão escovando seus dentes normalmente com pasta de dente com flúor. O aparelho removível deverá ser escovado 3 vezes por dia com escova e solução de pasta de dente que será entregue pelos pesquisadores. Depois de 5 dias os pedaços de dente serão retirados do aparelho e avaliados pelos pesquisadores.

7. Desconforto, riscos e benefícios:

Os voluntários poderão sentir um leve desconforto pelo uso do aparelho removível, que será minimizado pela prova e ajuste prévios. Os pesquisadores acompanharão os procedimentos e oferecerão a assistência necessária durante a pesquisa caso haja problemas relacionados ao uso do aparelho removível.

Os voluntários receberão benefícios indiretos, através de esclarecimento de certas questões relevantes para a Dentística, por meio da divulgação dos resultados no meio científico.

8. Retirada do consentimento:

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento, deixando de participar do estudo sem que isso acarrete qualquer penalidade nem represália de qualquer natureza.

9. Garantia de sigilo:

Será mantido o sigilo quanto a identidade de todos os voluntários na divulgação e publicação dos dados da pesquisa.

10. Garantia de esclarecimento:

Os voluntários têm garantia de que receberão respostas a qualquer pergunta e esclarecimento de qualquer dúvida antes, durante e após a realização da pesquisa. Qualquer problema relacionado a pesquisa deverá ser comunicado o mais breve possível a Silmara Milori Corona e: ou Renata Siqueira Scatolin, pelos e-mail: silmaracorona@forp.usp.br ou re_scatolin@hotmail.com ou pelos telefones: (16) 36024068, (16) 819280898.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Maria Cristina Borsatto, RG 7650832-8, Renata Siqueira Scatolin, RG 33316305-9, Silmara Aparecida Milori Corona, RG 17389809-9 e Vivian Colucci, RG 30546843-1, convidamos (nome) _____ (nacionalidade) _____, (profissão) _____, portador (a) do RG _____, CPF _____, residente e domiciliado(a) à Rua _____, na cidade de _____, Estado _____, a participar da pesquisa intitulada “*EFEITO DO LASER DE Er:YAG NO CONTROLE DO DESGASTE DO ESMALTE DENTAL*”, sob nossa responsabilidade.

Como voluntário esclareço que:

- 1) Recebi todas as informações sobre minha participação nesse experimento e sei que posso desistir da pesquisa em qualquer momento, sem prejuízo de qualquer natureza;
- 2) Fui amplamente informado por um profissional que não está envolvido na pesquisa, sobre os possíveis benefícios e riscos aos quais estou me submetendo durante este experimento, tomando conhecimento que a minha autorização pra participar da pesquisa não retira a responsabilidade do profissional que está executando a pesquisa.
- 3) Sei que utilizarei um aparelho no céu da boca que contém pedaços de dente bovino esterelizado.
- 4) Todas essas normas estão de acordo com a Resolução n°196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

Por estar de pleno acordo com o presente termo, assino abaixo o mesmo.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 20 ____.

Paciente ou responsável

Prof^a. Silmara Aparecida Milori Corona (CPF: 145.399.108-50)

Prof^a. Maria Cristina Borsatto (CPF: 074593888-40)

Renata Siqueira Scatolin (CPF: 329.560.218-26)

Vivian Colucci (CPF: 255.087.918-09)