Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Fernando Akio Maeda

USO DOS LASERS DE Er:YAG E Nd:YAG NO CONTROLE DA PROGRESSÃO
DE LESÕES EROSIVAS EM DENTINA RADICULAR

Orientadora: **Profa. Dra. Mônica Campos Serra**

Ribeirão Preto

2009

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

**USO DOS LASERS DE Er:YAG E Nd:YAG NO CONTROLE DA PROGRESSÃO
DE LESÕES EROSIVAS EM DENTINA RADICULAR**

Fernando Akio Maeda

*Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para a
obtenção do título de Mestre em Odontologia pelo
Programa de Odontologia Restauradora, sub-área
Dentística.*

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Campos Serra

Ribeirão Preto

2009

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.

FICHA CATALOGRÁFICA

MAEDA, F A

Uso dos lasers de Er: YAG e Nd: YAG no controle da progressão de lesões erosivas em dentina radicular. Ribeirão Preto, 2009. 55p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo. Área de concentração: Odontologia Restauradora.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Campos Serra

1. Erosão 2. Dentina radicular 3. Nd:YAG 4. Er:YAG 5. Permeabilidade.

Este trabalho de pesquisa foi realizado no Laboratório de Pesquisa da área de Dentística do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernando Akio Maeda

Uso dos lasers de Er: YAG e Nd: YAG no controle da progressão de lesões erosivas em dentina radicular.

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

Área de concentração: Odontologia Restauradora -
Dentística

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof (a). Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

FERNANDO AKIO MAEDA

Nascimento	22 de Maio de 1981 Guarulhos – SP
Filiação	Toshio Maeda Nair Masako Ynoue Maeda
1999-2005	Curso de Odontologia – Faculdade de Odontologia de Araçatuba. UNESP – SP

DEDICATÓRIA

À Deus, permanente luz do meu caminho.

*Aos meus pais, Toshio e Nair, exemplos de carinho e
Renúncia a favor dos filhos, que foram e ainda o são peça chave de
Minha formação. Acreditaram, contribuíram e compartilharam com
A idealização de meus sonhos, sem permitir que nada me faltasse.*

*Aos meus irmãos Guilherme e Leandro, companheirismo e
a busca por realizações pessoais.*

*A Cynthia, pela compreensão, apoio e companheirismo em todos os
momentos.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Profa. Dra. Mônica Campos Serra**, pela confiança em mim depositada. Exemplo de dedicação ao trabalho e à ciência, meus sinceros agradecimentos pelo incentivo e orientação.

À **Profa. Dra. Cecilia Pedroso Turssi**, um exemplo de dedicação e competência, por todas as oportunidades, pelos ensinamentos transmitidos, pelo incentivo e pela confiança em mim depositada.

À **Profa. Dra Silmara Aparecida Milori Corona**, pela atenção, conselhos, ajuda e amizade em todos os momentos.

À **doutoranda Danielle Cristine Furtado Messias**, pela amizade, companhia e confiança. Agradeço com veemência a sua ajuda e amizade.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, na pessoa do seu diretor, **Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon**.

Ao Departamento de Odontologia Restauradora na pessoa do **Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora**

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 Sousa Neto**.

Aos **Profas Dras.. Silmara Aparecida Milori Corona e Isabel Cristina Fröner**, pela participação como membros da banca examinadora da minha qualificação.

As Às **Profas. Dras. Regina Guenka Palma Dibb e Telma Nunes do Nascimento**, professoras de Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pelas sábias palavras de ensino, orientação e incentivo.

Ao **Profs Drs. Vanderley Salvador Bagnato, Cristina Kurachi** e a **pós-doutorando Carla Fontana** do Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP) por disponibilizar a utilização do aparelho laser.

Ao centro de esterilização de Óxido de Etileno do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Aos amigos de pós-graduação **Alessandra, Aline, Cesar, Cristiane, Daniel, Francisco, Ju Ciccone, Ju Faraoni, Pedro, Vivian e Walter** pela amizade e a troca de conhecimentos.

Aos amigos **Ana Paula, André, Diogo, Douglas, Fabrício e Rodrigo**.

Aos Voluntários **Adriely, André, Ana Carolina, Carlos, Cesar, Cecilia, Danielle, Daniel, Francisco, Máisa, Walter** - que com dedicação se dispuseram à causa científica.

À **Patrícia Marchi**, pela amizade e auxílio durante os experimentos.

Ao **Carlos**, secretário da pós-graduação do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pelo seu competente trabalho e solicitude.

À **Amália e Maria Isabel**, secretárias do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP.

À **Luiza e Rosângela**, funcionárias do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP.

À **Isabel e Regiane**, funcionárias da Seção de pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, pela ajuda e presteza com que sempre me atenderam.

Aos demais **funcionários da FORP – USP**, pois cada um à sua maneira, contribuiu para o bom andamento do curso de mestrado.

À **CNPQ**, pelo auxílio financeiro.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.

“Aqueles que estão apaixonados pela prática sem a ciência são iguais ao piloto que navega sem leme ou bússola e nunca tem certeza para onde vai. A prática deve sempre estar baseada em um perfeito conhecimento da teoria.”

Leonardo Da Vinci

SUMÁRIO

Resumo	12
Abstract	14
Introdução e Revisão	17
Proposição	22
Materiais e Métodos	24
Resultados	32
Discussão	34
Conclusão	39
Referências	41
Fluxograma	48
Apêndice	50

Resumo

MAEDA, F.A. **Uso dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG no controle da progressão de lesões erosivas em dentina radicular.** 2009. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Quando os túbulos dentinários ficam expostos ao meio bucal, sendo a erosão o principal fator etiológico, estímulos aplicados na dentina provocam movimentação rápida do fluido desencadeando a hipersensibilidade dentinária. O objetivo desse estudo foi avaliar, através modelo *crossover 2x2 in situ*, se o efeito da irradiação a laser seria capaz de controlar a permeabilidade da dentina radicular erodida submetida a subseqüentes desafios erosivos. Fragmentos de dentina (3x3 mm) foram ciclado por desafio erosivo (ácido cítrico 0.3%, 2h) para induzir lesões erosivas, seguido por um período de remineralização em saliva artificial (24 h). Os espécimes foram irradiados com laser de Nd:YAG (1W/15Hz) ou Er:YAG (100mJ/3Hz) ou não irradiado. Doze voluntários participaram utilizando dispositivos intra-oral, em duas fases de 5 dias cada. No primeiro período, metade dos voluntários expôs os espécimes a episódios erosivos, enquanto a outra metade não expôs a nenhum tipo de desafio. Seguido de um período de 2 dias de *washout*, os voluntários submeteram os espécimes ao procedimento alternado. No final de cada fase, os espécimes foram removidos e preparados para avaliação da permeabilidade. Após a coloração com soluções de sulfato de cobre e ácido rubêânico, os espécimes foram seccionados e digitalizados sob microscopia óptica. A permeabilidade relativa foi quantificada através da relação entre a profundidade de penetração de íons cobre e a espessura da dentina. ANOVA e o teste de Tukey demonstraram que o grupo não irradiado exposto a desafios subseqüentes produziu os maiores valores de permeabilidade (Er:YAG: 4,2%^a; Nd:YAG: 4,6%^a; Ct: 14,6%^b).

Os resultados obtidos mostraram que os lasers podem controlar a progressão da erosão na dentina radicular.

Palavras-Chave: erosão, dentina radicular, Nd:YAG, Er:YAG, permeabilidade.

Abstract

MAEDA, F.A. **Use of Er: YAG and Nd:YAG lasers on the control of progression of erosion lesions on root dentine.** 2009. p. Dissertation (master's degree) – School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

When the dentinal tubules are exposed to the oral environment, the erosion the main etiological factor, stimuli applied to the dentin causing rapid movement of the fluid causing the hypersensitive dentin. The aim of this investigation was to evaluate, through a *crossover 2x2 in situ* trial, whether the effect of laser irradiation would be capable to control the permeability of eroded root dentin subjected to further acid challenges. Dentin slabs (3x3 mm) were cycled through erosive challenges (0.3% citric acid 2h) to induce erosion-like lesions, followed by a remineralizing period in artificial saliva (24 h). Specimens were laser-irradiated with Nd:YAG (1W/15Hz) or Er:YAG (100mJ/3Hz) or nonirradiated. Twelve volunteers participated using intraoral devices, in two phases of 5 days each. In the first period, half of participants exposed the specimens to erosive episode, while the other half did not perform any erosive challenge. Followed a 2-day *washout* period, volunteers submitted the slabs to the alternative procedure. In the end of each phase, specimens were prepared for permeability evaluation. After staining with solutions of copper sulfate and rubianic acid, the specimens were sectioned and scanned under light microscopy. Relative permeability was quantified by the relationship between the depth of penetration of copper ions and the thickness of dentin. ANOVA and Tukey's test demonstrated that the nonirradiated group exposed to further erosion episodes produced the highest permeability (Er:YAG: 4,2%^a; Nd:YAG: 4,6%^a; Ct: 14,6%^b). The obtained results showed that lasers can control the erosion progression in root dentin.

Keywords: erosion, dentin, Nd:YAG, Er:YAG, permeability.

Introdução e Revisão

Introdução e Revisão

Embora tenha sido observado uma melhoria da saúde bucal da população, com o conseqüente aumento da manutenção dental, (ZERO; LUSSI, 2005) a alteração dos hábitos dietéticos, o aumento do consumo de bebidas e alimentos ácidos (MOAZZEZ; SMITH; BARTLETT, 2000), tem levado a uma maior prevalência e severidade de lesões não cariosas, como a erosão dental (SHAW; SMITH, 1998). Tais lesões consistem na perda irreversível de tecido dental decorrente de ações químicas sem que haja o envolvimento de microrganismos (ECCLES, 1994; IMFELD, 1996) podendo ser causadas por agentes intrínsecos, como vômitos recorrentes ou regurgitação do conteúdo gástrico (JARVINEN; RYTOMAA; HEINONEN, 1991; SCHEUTZEL, 1996), ou por fatores extrínsecos, que incluem a ingestão de substâncias ácidas presentes em bebidas, comidas ou medicamentos (ECCLES; JENKINS, 1974; ASHER; READ, 1987; ZERO 1996).

Em dentina, a erosão dental caracteriza-se pela degradação química associada à desmineralização superficial (ADDY; SHELLIS, 2006), com conseguinte redução de sua microdureza superficial (HARA; LUSSI; ZERO 2006) e também pelo aumento de sua permeabilidade (LUSSI; JÄGGI; SCHÄRER, 1993; PRATI et al., 2003). Observa-se que, inicialmente, apenas a dentina peritubular é afetada pelo desafio erosivo, sendo que, com a progressão das lesões, os túbulos dentinários passam a apresentar um maior diâmetro e, posteriormente, áreas de dentina intertubular também são afetadas. Deste modo, temos que o processo erosivo na dentina peritubular e remoção da *smear plug* promovem aumento da permeabilidade, o que pode desencadear a sintomatologia dolorosa (Prati et al., 2003).

A hipersensibilidade dentinária é definida como uma dor aguda, curta e passageira em resposta a estímulos mecânicos, químicos, térmicos ou osmóticos, a qual não pode ser relacionada a nenhuma outra patologia (HOLLAND et al., 1997). Segundo a teoria hidrodinâmica (BRÄNNSTRÖM 1992), a sensação dolorosa é oriunda da exposição dentinária diante de estímulos externos, levando ao deslocamento do fluido tubular e deformação dos mecano-receptores.

Na sintomatologia dolorosa, o diâmetro do túbulo é bastante importante uma vez que o grau de fluxo do fluido é proporcional à quarta potência do raio do mesmo. Assim, o aumento do diâmetro do túbulo em duas vezes resulta em um aumento da vazão do fluido em 16 vezes (FOGEL; MARSHALL; PASHLEY, 1988). Além disso, os dentes sensíveis apresentam muito mais túbulos (8 vezes) e estes possuem diâmetros maiores (2 vezes) na área cervical da superfície vestibular do que quando comparados com dentes não sensíveis (ABSI; ADDY; ADAMS, 1987).

Para que o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical seja realmente efetivo, um bom diagnóstico torna-se imprescindível, de modo a detectar os fatores predisponentes e eliminá-los. Dentre estes fatores, a dieta pode ser considerada o principal fator predisponente, porém a sua eliminação ou modificação é de difícil aceitação por parte dos pacientes. Dessa forma, opta-se pela tentativa de aliviar a sintomatologia dolorosa e controlar a progressão das lesões de erosão por meio do emprego de agentes com efeito na despolarização das terminações nervosas (MARSÍLIO et al., 2006; CORONA et al., 2003) e, sobretudo, agentes obliteradores dos túbulos dentinários (SAURO et al., 2006; HSU et al., 2006), que interferem na condução hidrodinâmica da dentina (BARTOLD, 2006).

Grossman (1935) enumerou as características ideais do material para o tratamento da hipersensibilidade dentinária: biocompatibilidade, fácil aplicação,

efeito permanente e ação rápida, não apresentar efeitos no tecido pulpar e não alterar a cor da estrutura dental.

Tradicionalmente, o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical vem sendo realizado por meio da aplicação de agentes que obliteram os túbulos dentinários pelos mecanismos de precipitação de proteínas que compõem os processos de Tomes, deposição de partículas na embocadura e interior dos túbulos, aplicação de película impermeabilizadora, ou procedimentos restauradores (BARTOLD, 2006). Tais condutas promovem a diminuição do diâmetro tubular, o que faz com que ocorra a redução da movimentação dos fluidos dentinários e, conseqüentemente, o alívio da sintomatologia dolorosa (PASHLEY, 1990).

Embora vários agentes sejam recomendados para o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical, a maioria é efetiva por um curto período de tempo (GILLAM et al., 1997) ou atua apenas no controle da dor, o que justifica a busca por novos agentes terapêuticos, que sejam capazes de controlar a progressão das lesões associadas à sintomatologia dolorosa.

Assim, a busca por um tratamento ideal e definitivo para as lesões de erosão, um dos principais responsáveis pelo desencadeamento da hipersensibilidade dentinária cervical tem impulsionado o a indicação de novas tecnologias, como os *Lasers*.

A palavra Laser é um acrônimo de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, ou seja, amplificação da luz pela emissão estimulada de radiação. Trata-se de um dispositivo que produz radiação eletromagnética com características específicas: monocromática (frequência muito bem definida), coerente (relações de fase bem definidas) e colimada (propaga-se como um feixe) (STABHOLZ et al.,

2003). Foi Albert Einstein quem lançou os fundamentos para invenção do Laser, utilizando a denominação emissão estimulada pela primeira vez (PARKER, 2007).

Matsumoto et al. (1985) foi o pioneiro a utilizar o *Laser* como forma de tratamento da hipersensibilidade aplicando o Nd:YAG, desde então, vários trabalhos realizaram a aplicação de lasers na dentina hipersensível, (KIMURA et al., 2000). Já a utilização do Er:YAG com essa finalidade só foi relacionado pela primeira vez por Schwarz et al. (2002).

A literatura mostra que o laser de Nd:YAG pode induzir a oclusão dos túbulos dentinários por meio da fusão e ressolidificação da dentina e da *smear layer* e promove bloqueio da despolarização das fibras nervosas, através da interferência na bomba de sódio e potássio, o que resulta em analgesia pulpar (SUNAKAWA; TOKITA; SUDA, 2000; STABHOLZ; SAHAR-HELFIT; MOSHONOV, 2004). Em adição, o laser de Er:YAG promove a redução do diâmetro dos túbulos (ARANHA et al., 2005), além de diminuir o volume do fluido dentinário através da evaporação das camadas superficiais do mesmo (SCHWARZ et al., 2002).

Embora a ação dos lasers de Nd:YAG e Er:YAG na redução da permeabilidade dentinária (ARANHA et al., 2005), na oclusão e diminuição do número de túbulos dentinários (NAYLOR et al., 2006) e na sensibilidade dolorosa (BIRANG et al., 2007; SCHWARZ et al., 2002) tenha sido demonstrada previamente, ainda faltam estudos que avaliem a permeabilidade dentinária do substrato dental irradiado após desafios ácidos subseqüentes à sua aplicação, o que dificulta a comprovação deste recurso na redução prolongada da permeabilidade da dentina e, conseqüentemente, no alívio permanente da dor.

Proposição

Proposição

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in situ* a capacidade dos lasers Er:YAG e Nd:YAG em controlar a permeabilidade da dentina radicular erodida submetida a desafios erosivos subseqüentes à irradiação.

Materiais e Métodos

Materiais e Métodos

Delineamento experimental.

Este foi um estudo, *crossover 2x2, in situ*, composto por dois períodos de 5 dias. Os fatores em estudo foram: 1) irradiação do laser em três níveis (Er:YAG e Nd:YAG lasers ou não irradiado como controle) e 2) simulação de desafios erosivos futuros em dois níveis (presente e ausente). A amostra experimental foi composta por 12 voluntários, sendo cada considerado um bloco estatístico. Depois de um período de 2 dias de *lead-in*, os voluntários utilizaram aparelho palatino contendo seis espécimes de dentina, previamente erodidos, três de cada lado do dispositivo, correspondendo à irradiação dos três níveis duplicado. No primeiro período intra-oral, metades dos voluntários expuseram os espécimes a episódios erosivos, enquanto a outra metade não recebeu nenhum desafio. Interposto por um período de 2 dias de *washout*, os voluntários expuseram seus espécimes ao procedimento alternado, no segundo período. No final de cada etapa, os espécimes eram removidos para avaliação da permeabilidade. A variável resposta foi à permeabilidade relativa em dentina (%).

Aspectos éticos

O presente estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FORP-USP (processo # 2008.1.155.58.5). Os voluntários foram esclarecidos quanto à metodologia do experimento, seus riscos e benefícios, e direito de desistirem da pesquisa em qualquer fase de execução da mesma. Após as informações recebidas, os voluntários assinaram um “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”, concordando em participar e colaborar com a realização do experimento.

Seleção dos voluntários

Crítérios de seleção

Para o estudo, foram selecionados doze voluntários de ambos os sexos (cinco mulheres e sete homens), residentes na cidade de Ribeirão Preto, com idades entre 20 e 45 anos, que se enquadraram nos critérios de inclusão e não apresentaram os de exclusão. Sendo esses critérios:

Crítérios de inclusão	Crítérios de exclusão
- Fluxo salivar estimulado > 0,7mL/min;	- Uso de medicamentos que interferem na secreção salivar;
- Disponibilidade para seguir a programação estabelecida para o experimento;	- Radioterapia ou quimioterapia;
- Ausência de lesão de cárie ativa;	- Gravidez ou lactação;
- Inexistência de lesões não-cariosas e superfícies radiculares expostas;	- Doença periodontal;
	- Prótese removível, aparelho ortodôntico ou placas oclusais;
	- Doenças sistêmicas, distúrbios de ordem digestiva.

Confecção dos dispositivos intra-bucais

Cada voluntário selecionado teve sua arcada superior e inferior moldadas com hidrocolóide irreversível (Jeltrade, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil). Os moldes foram vazados com gesso-pedra, obtendo-se os respectivos modelos de trabalho. Dispositivos em resina acrílica autopolimerizável foram confeccionados, constituído de uma placa palatina, preparada com seis nichos, medindo 4 x 4 x 4 mm, na superfície externa dos dispositivos, sendo três de cada lado, para a fixação dos fragmentos de dentina.

Preparo dos fragmentos de dentina radicular

Os dentes foram seccionados na junção amelo-cementária com disco diamantado montado em cortadeira elétrica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Germany). Posteriormente, a porção radicular foi seccionada no sentido mésio-distal e cérvico-apical, no terço cervical, de modo obter uma secção por dente. Cada um dos fragmentos será novamente levado à máquina de corte se obtendo dimensões de 3x3 mm. Após a obtenção dos fragmentos os espécimes foram submetidos à esterilização com óxido de etileno (Toro *et al.*, 2000). Posteriormente à esterilização, nova análise quanto à presença de trincas foi realizada com auxílio do estéreo microscópio.

Previamente ao desafio erosivo inicial, foi realizada a aplicação de esmalte cosmético (Colorama, Maybelline, Brasil) nas faces, mantendo-se exposta apenas uma área circular superficial de 2,5 mm² que seria submetida ao desafio erosivo.

Desafio Erosivo Inicial

Cada fragmento foi imerso individualmente em um erlenmeyer contendo 10 mL de ácido cítrico 0,3% (Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt, Alemanha) pH 3,2, a temperatura ambiente e levados à máquina de agitação (MPC, ElQuip, São Carlos, SP, Brasil) por 2 horas (VANUSPONG; EISENBURGER; ADDY, 2002). Seguido por um período de remineralização, no qual todos os fragmentos foram imersos em saliva artificial (pH 6,75, como descrito por McKnight-Hanes and Whitford (1992) e modificado por Amaechi; Higham; Edgar (1999), por 24 horas. Até o início do tratamento superficial os fragmentos foram armazenados em umidade relativa.

Irradiação Laser

Os espécimes foram aleatoriamente divididos em 3 grupos de acordo com o tratamento empregado: A. irradiação com laser de Er:YAG (Fidelis Plus Fotona, Ljubljana, Eslovenia); B. irradiação com laser de Nd:YAG (Fidelis Plus Fotona, Ljubljana, Eslovenia) e C. ausência de tratamento (controle negativo). A irradiação com laser de Er:YAG foi realizado com 100mJ,3Hz (BIRANG et al., 2007), no modo não contato, desfocado a uma distância de 17 mm do substrato (de SOUZA-GABRIEL et al., 2006), por 30 s. Para a irradiação dos espécimes do grupo A, um *spray* de água de 1,5 mL/min foi ativado e a regulação do fluxo de água para a refrigeração do tecido dental (COLUCCI et al., 2008). A irradiação com laser de Nd:YAG , o qual emite pulsos a 1.064 μm , com diâmetro da fibra óptica de quartz de 300 μm , foi empregado com 1W, 15Hz, no modo contato (BIRANG et al., 2007), sem refrigeração, por 30s. A cada 5 espécimes irradiados a fibra óptica do laser de Nd:YAG foi clivada.

Durante a irradiação dos grupos experimentais os espécimes do grupo controle foram mantidos em umidade relativa.

Montagem dos fragmentos nos dispositivos intra-bucais

De acordo com um sorteio aleatório, foram posicionados seis fragmentos de dentina para cada voluntário, sendo réplica para cada um dos tratamentos superficiais, ou seja, em cada aparelho foram fixados 2 fragmentos de dentina irradiados com laser de Er:YAG, 2 irradiados com laser de Nd:YAG e outros 2 pertencentes ao grupo controle. A fixação dos fragmentos foi realizada com cera. Após ser verificada a adaptação intra-bucal dos dispositivos e a realização dos ajustes, quando necessários, as placas palatinas foram instaladas nos participantes.

Fase intra-oral

Durante 2 dias antes do início do uso dos aparelhos, os voluntários foram instruídos a utilizar a escova dental (Oral-B Indicator 35, Gillette do Brasil Ltda., Manaus, Amazonas, Brasil) e o dentifrício (Colgate Maxima Proteção Anticáries, 1450 ppm MFP, Colgate-Palmolive, Divisão da Kolynos do Brasil Ltda., Osasco, São Paulo, Brasil) fornecidos pelos pesquisadores.

Seguindo o delineamento *crossover* utilizado, o estudo consistiu de 2 fases de 5 dias, intercalados por um período de 2 dias de *wash out*. Os voluntários utilizaram os aparelhos das 8:00 as 17:00, exceto durante as refeições e higiene oral. Os aparelhos que continham os espécimes foram mantidos em gaze umedecida e em recipientes fechados quando removidos da boca ou durante a noite. Os participantes foram instruídos a não fazer uso de usar qualquer produto ou enxagüatórios bucais fluoretados.

Na primeira fase, segundo um sorteio aleatório, metade dos voluntários realizaram a imersão do dispositivo intra-oral *ex vivo* (fora da cavidade bucal) em 50 ml de solução de ácido cítrico 0,3 %, pH 3,2 por 90s, quatro vezes ao dia (9:00, 11:00, 12:00 e 15:00 horas.), enquanto a outra metade dos voluntários não realizou nenhum tipo de desafio. Na segunda fase houve a alternância, sendo os desafios ácidos realizados somente pela metade dos voluntários que não há fizeram na primeira fase.

Visando prevenir o acúmulo de biofilme sobre os espécimes de dentina, uma gota de solução 0,2% de clorexidina foi aplicado por 3 min no início e no final de cada um dos 5 dias do estudo, em ambos os períodos intra-orais. Ao final de cada etapa, os fragmentos foram removidos dos dispositivos para avaliação da

permeabilidade, e antes do início da segunda fase 6 novos espécimes foram fixados ao aparelho.

Método de Coloração Histoquímica

Finalizada a fase intra-oral os espécimes de dentina foram individualmente imersos em 1 mL de uma solução aquosa de sulfato de cobre a 10% (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil), por 30 minutos. A seguir, os fragmentos foram secos em papel absorvente e imersos em 1 mL de solução alcoólica de ácido rubeânico (Fluka, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) a 1%, por 30 minutos. O referido ácido reage com os íons cobre, formando rubeanato de cobre, de coloração verde escuro. Após a coloração, os corpos-de-prova foram lavados com água destilada por 15 segundos, secos e mantidos individualmente em um recipiente vedado, com algodão embebido em amônia por 7 dias. Protocolo semelhante de coloração histoquímica foi descrito por Carrasco et al., 2003 e validado para lesões de erosão por Turssi; Alves; Serra, (2005).

Avaliação da permeabilidade

Os corpos-de-prova foram seccionados transversalmente em cortadeira de precisão refrigerada à água. Da região circular delimitada foram obtidas três secções com espessura média de 400 μm . Estas foram reduzidas com lixa de óxido de alumínio (granulações 1200) até se obter a espessura aproximada de 200 μm .

As imagens para as análises da permeabilidade foram obtidas com auxílio de uma câmera fotográfica digital (Cyber-shot DSC-S75, Sony, Japan) acoplada ao microscópio óptico Axiostar Plus (Carl Zeiss Light Microscopy, Göttingen, Germany). A avaliação da permeabilidade foi realizada utilizando-se o software Axiovision 4.6

(Carl Zeiss Jena, Germany) para captura e análise de imagem, que permitiu a mensuração da extensão da penetração dos íons cobre. Em cada um dos três cortes obtidos para cada unidade experimental, foram realizadas cinco avaliações da penetração da solução traçadora. A média desses cinco valores representou a permeabilidade em cada secção. Para cada corpo-de-prova foram obtidos, portanto, quinze valores de permeabilidade relativa, calculada de acordo com a fórmula:

$$\text{Permeabilidade relativa: } \frac{\text{extensão da penetração da solução}}{\text{espessura da dentina}}$$

Resultados

Resultados

ANOVA split-plot mostrou uma interação significativa entre irradiação laser e simulação de futuros desafios erosiva ($p < 0,001$). Resultados de teste de Tukey estão apresentados na Tabela 1.

Na ausência da simulação futura de erosão, não houve diferença significativa na permeabilidade entre os espécimes não irradiado ou irradiados com Er: YAG e Nd: YAG. No entanto, quando grupo não irradiado foi exposto à erosão episódio erosivo, produziu a maior permeabilidade. Mesmo após a simulação futura da erosão, não foi demonstrada diferença significativa entre os grupos irradiados com os lasers Er:YAG e Nd:YAG.

TABELA 1. Dados da permeabilidade (valores médios e desvios padrão) para cada grupo experimental, expresso em μm .

Irradição laser Simulação de desafios erosivos futuros			
	Não irradiado	Nd:YAG	Er:YAG
Ausente	4.6 (1.4) ^{Aa}	4.1 (1.0) ^{Aa}	4.5 (1.5) ^{Aa}
Presente	14.6 (3.1) ^{Bb}	4.5 (2.3) ^{Aa}	4.2 (1.3) ^{Aa}

* Letras maiúsculas indicam significante diferenças entre a simulação de desafios erosivos futuros ($p < 0,001$)

** Letras minúsculas indicam significante diferenças entre os tratamentos ($p < 0,001$)

Discussão

Discussão

Para o tratamento da hipersensibilidade dentinária um correto diagnóstico e eliminar os fatores predisponentes devem ser considerados (GILLAM; ORCHARDSON, 2006). Como fator de risco, a dieta tem recebido atenção, considerando que os ácidos de alimentos e bebidas podem causar a erosão dental (ZERO 1996). Nesse sentido, como a estratégia para mudar os hábitos alimentares é difícil de serem assimilados pelos pacientes (JAEGGI; LUSSI, 2006), alguns tratamentos têm sido indicados para aliviar a sintomatologia dolorosa, como a utilização dos lasers Nd:YAG (CIARAMICOLI; CARVALHO; EDUARDO, 2003; BIRANG et al., 2007) e Er:YAG (SCHAWARZ et al., 2002; BIRANG et al., 2007).

Este estudo teve como objetivo avaliar se a irradiação dos lasers Er:YAG e Nd:YAG, seria capaz de inibir o desenvolvimento de lesões erosivas em dentina radicular. De acordo com alguns estudos, o provável efeito protetor dos lasers seria a oclusão dos túbulos dentinários (LIU; LI; LAN, 1997; DILSIZ et al., 2009), enquanto outras investigações indicam um aumento da resistência ácida por alterações químicas (FEATHERSTONE; NELSON, 1987). De qualquer maneira, independente do efeito promovido pelos lasers nos tecidos dentais irradiados, a permeabilidade dentinária acaba sendo afetada (ARANHA et al., 2005).

O modelo *in situ* foi escolhido na tentativa de simular as condições orais, especialmente pela presença da saliva, que é considerada um fator protetor biológico. (ADDY; SHELLIS, 2006; HARA; LUSSI; ZERO, 2006).

Considerando que as medidas para controle da progressão das lesões de erosão são indicadas quando estas estão presentes, todos os espécimes foram expostos a um erosivo desafio com ácido cítrico 0.3% por duas horas (VANUSPONG; EISENBURGER; ADDY, 2002), previamente a fase intra-oral. O

ácido cítrico é um dos principais ácidos em frutas, vegetais e sucos prontos para beber têm de 0.3% de ácido cítrico (WEST; HUGHES; ADDY, 2000). Os desafios futuros foram realizados após irradiação com lasers, a fim de simular a dificuldade de se eliminar a dieta ácida (GILLAM; ORCHARDSON, 2006).

Com base nos presentes resultados, eliminar o fator causal ou tratamento utilizando os lasers parecem ser boas alternativas para o controle da erosão. Os grupos não expostos aos desafios ácido subseqüentes e aqueles irradiados com Er:YAG ou Nd:YAG submetidos a desafios apresentaram menores valores de permeabilidade, comparado com o grupo não irradiados submetido à exposição ácido subseqüente (Tabela 1).

As irradiações a lasers quando não expostos a desafios erosivos subseqüentes, não oferecem benefícios adicionais na redução da permeabilidade dentinária, em comparação com o grupo não irradiado. Embora a aplicação laser possa resultar na obliteração dos túbulos dentinários, esta não parece ocorrer em 100% da dentina irradiada (KUMAR; MEHTA, 2005; NAYLOR et al., 2006), o que poderia explicar a semelhança estatística entre estes os grupos (Tabela 1). Além disso, o efeito remineralizante da saliva estava presente em todos os grupos expostos ao modelo intra-oral. A saliva é freqüentemente supersaturada com relação à menor solubilidade do cálcio e fosfato, o que tende a precipitar (ten CATE et al., 2008).

Quando grupo não irradiado foi exposto a um desafio erosivo futuro, os valores de permeabilidade foram os mais elevados (Tabela 1). Este achado é consistente com Prati et al. (2003), e Naylor et al. (2006), provavelmente devido à exposição dos túbulos dentinários (LIU; LI; LAN, 1997; PRATI, et al. 2003; KUMAR; MEHTA, 2005; NAYLOR et al. 2006), pela remoção da smear layer (PRATI et al.,

2003) e pelo alargamento do diâmetro dos túbulos dentinários (NAYLOR et al., 2006). Por outro lado, a irradiação com os lasers Nd:YAG ou Er:YAG resultaram em baixos valores de permeabilidade, mesmo na presença de desafio erosivo posterior.

A interação de Nd:YAG com os tecidos dentários pode ser classificada como fototérmica (YAMADA et al., 2004). De acordo com White et al. (1993), os parâmetros de até 1 W, tal como foi utilizado neste estudo, não causaria qualquer dano pulpar. Este laser produz aumento da temperatura, resultando em fusão da dentina, com decomposição hidroxiapatita, carbonização do colágeno e outras proteínas (YAMADA et al., 2004). Os resultados do presente estudo corroboram os de Naylor et al. (2006), que sugerem um aumento da resistência ácida após a aplicação do Nd:YAG.

O laser de Er:YAG tem sido eficiente na aplicação odontológica, devido ao seu mecanismo de ablação termomecânica e sua elevada absorção pela água, em razão do seu comprimento de onda (AOKI et al., 1998). Neste estudo, o Er: YAG irradiado com refrigeração a água, seria uma estratégia para minimizar os riscos de danos iatrogênicos à polpa dentária, pela dissipação do calor (ATTRILL et al., 2004). O modo desfocado e os parâmetros utilizados foram inferiores ao limiar de ablação tecidos dentários duros, na tentativa de evitar a remoção dos tecidos

Em virtude da grande variedade de parâmetros e métodos utilizados nos lasers de Er:YAG e Nd:YAG em diferentes pesquisas, tornar-se difícil comparar os resultados de diferentes estudos. Naylor et al. (2006) avaliou *in vitro* dentina superficial tratada com laser Nd:YAG com densidade energética de 85 J/cm², potência de 0,6 W, frequência de 10 Hz, após 6 horas de re-imersão em ácido diferentes bebidas, observou-se o aspecto de *melting*, a presença de alguns grânulos de recristalização e alguns túbulos dentinários abertos. De acordo com os

resultados *in vitro* de Aranha et al. (2005), o laser Er:YAG com 60 mJ, 2 Hz e laser Nd:YAG com 1,5 W, 15 Hz, diminuíram a permeabilidade dentinária, embora estes autores não tiveram como objetivo expor os espécimes a ácidos, nem antes ou nem após da irradiação laser.

O aumento da resistência ácida encontrada pode ter ocorrido pelas alterações químicas, em razão do efeito térmico de ambos os lasers. O aumento da temperatura do substrato dental entre 100 e 650 °C, como promovidas pela lasers empregados, resultaria em alterações químicas e estruturais, como a perda de água e a redução do conteúdo de carbonato (FOWLER; KURODA, 1986; FEATHERSTONE; NELSON, 1987), sendo que a diminuição do carbonato leva à baixa solubilidade da apatita (FEATHERSTONE, 2004; ten CATE et al, 2006). A presença de flúor na saliva, que pode ser incorporadas a apatita, de modo que a alteração dos tecidos não será só pela diminuição do carbonato, mas também mais elevação do conteúdo de flúor (ten CATE et al, 2006). Após repetitivos eventos de dissolução, tecidos dentários podem tornar-se mais resistentes à dissolução de futuros episódios (FEATHERSTONE, 2004; ten CATE et al., 2008).

Não é necessário ocorrer fusão e o *melting* e da dentina para aumentar a resistência ácida (HSU et al., 2000). A oclusão dos túbulos dentinários não parece ser a única explicação para a menor permeabilidade após irradiação laser. Alterações químicas pelo efeito térmico dos lasers poderiam levar a um aumento da resistência ácida e provavelmente explicando os menores valores de permeabilidade em grupos irradiados a lasers após eventos erosivos subseqüentes. No entanto, para se comprovar esta hipótese futuros trabalhos são necessários.

Conclusão

Conclusão

Com base nos resultados obtidos os lasers de Er:YAG e Nd:YAG não se mostraram superiores ao grupo não irradiado, quando não houve desafios subseqüentes, porém quando estavam presentes, ambos os lasers indicaram que podem impedir a progressão da erosão em dentina radicular.

Dessa forma é importante identificar e controlar fatores erosivos, como a alteração da dieta ácida deve ser reforçada. Quando a estratégia de eliminar os fatores causais falharem, os lasers Nd:YAG e Er:YAG podem controlar a permeabilidade dentinária radicular.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas*

1. ABSI, E.G.; ADDY, M.; ADAMS, D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. **J Clin Periodontol.**, v.14, p.280-284, 1987.
2. ADDY, M.; SHELLIS, R.P. Interaction between Attrition, Abrasion and Erosion in Tooth Wear. **Monogr Oral Sci.**, v.20, p.17-31, 2006.
3. AMAECHI BT, HIGHAM SM, EDGAR WM. Techniques for the production of dental eroded lesions in vitro. **J Oral Rehabil** 1999;26:97:102.
4. AOKI, A.; ISHIKAWA, I.; YAMADA, T.; OTSUKI, M.; WATANABE, H.; TAGAMI, J.; ANDO, Y.; YAMAMOTO, H. Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro **J Periodontal Res.**, v.35, p.266-277, 2000.
5. ARANHA, A.C.; DOMINGUES, F.B.; FRANCO, V.O.; GUTKNECH, N.; EDUARDO, C.P. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: a preliminary in vitro study. **Photomed Laser Surg.**, v.23, p.504-508, 2005.
6. ASHER, C.; READ, M.J.F. Early enamel erosion in children associated with the excessive consumption of citric acid. **Br Dent J.**, v.162, p.384-387, 1987.
7. ATTRILL, D.C.; DAVIES, R.M.; KING, T.A.; DICKINSON, M.R.; BLINKHORN, A.S. Thermal effects of the Er:YAG laser on a simulated dental pulp: a quantitative evaluation of the effects of a water spray. **J Dent.**, v.32, p.35-40, 2004.
8. BARTOLD, P.M. Dentinal hypersensitivity: a review. **Aust Dent J.**, v.51, p.212-218, 2006.

* De acordo com estilo ABNT

9. BIRANG, R.; POURSAMIMI, J.; GUTKNECHT, N.; LAMPERT, F.; MIR, M. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hypersensitivity treatment. **Lasers Med Sci.**, v. 22, p.21-24, 2007.
10. BRÄNNSTRÖM M. Etiology of dentin hypersensitivity. **Proc Finn Dent Soc.**, v.88, p.7-13, 1992
11. CARRASCO, L.D.; FRONER, I.C.; CORONA, S.A.; PÉCORA, J.D. Effect of internal bleaching agents on dentinal permeability of non-vital teeth: quantitative assessment. **Dent Traumatol.**, v.19, p.85-89, 2003.
12. ten CATE, J.M.; LARSEN, M.J.; PEARCE, E.I.F.; FEJERSKOV, O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. Cap.12, p.209-230. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. Dental Caries. The disease and its clinical management. 2 Ed. 2008.
13. CIARAMICOLI MT, CARVALHO RC, EDUARDO CP. Treatment of cervical dentin hypersensitivity using neodymium: Yttrium-aluminum-garnet laser. Clinical evaluation. **Lasers Surg Med.**, v.33, p.358-362, 2003.
14. COLUCCI, V.; LUCISANO BOTELHO DO AMARAL, F.; PÉCORA, J.D.; PALMA-DIBB, R.G.; CORONA, S.A.M. Water flow on erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: effects on dental tissues. **Lasers Med Sci.**, Apr 19 [Epub ahead of print] 2008.
15. CORONA, S.A.; NASCIMENTO, T.N.; CATIRSE, A.B.; LIZARELLI, R.F.; DINELLI, W.; PALMA-DIBB, R.G. Clinical evaluation of low-level laser therapy and fluoride varnish for treating cervical dentinal hypersensitivity. **J Oral Rehabil.**, v.30, p.1183-1189, 2003.

16. DILSIZ, A.; CANAKCI, V.; OZDEMIR, A.; KAYA, Y. Clinical Evaluation of Nd:YAG and 685-nm Diode Laser Therapy for Desensitization of Teeth with Gingival Recession. **Photomed Laser Surg.**, Mar 12. [Epub ahead of print] 2009.
17. ECCLES, J.D.; JENKINS, W.G. Dental erosion and diet. **J Dent.**, v.2, p.153-159, 1974.
18. ECCLES, J.D. Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. **Dental Update.**, v.35, p.373-381, 1994.
19. FEATHERSTONE, J.D. The continuum of dental caries – evidence for a dynamic disease process. **J Dent Res.**, v.83, p.39-42, 2004.
20. FEATHERSTONE, J.D.; NELSON, D.G. Laser effect on dental hard tissues. **Adv Dent Res.**, v.1, p.21-26 1987.
21. FOGEL, H.M.; MARSHALL, F.J.; PASHLEY, D.H. Effects of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. **J Dent Res.**, v.67, p.1381-1385, 1988.
22. FOWLER, B.O.; KURODA, S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. **Calcif Tissue Int.**, v.38, p.197-208, 1986.
23. GILLAM, D.G.; COVENTRY, J.F.; MANNING, R.H.; NEWMAN, H.N.; BULMAN, J.S. Comparison of two desensitizing agents for the treatment of cervical dentine sensitivity. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.13, p.36-39, 1997.
24. GILLAM, D.G.; ORCHARDSON, R. Advances in the treatment of root dentine sensitivity: mechanisms and treatment principle. **Endod Topics.**, v.13, p.13–33, 2006.
25. GROSSMAN, L.E. The treatment of hypersensitive dentine. **JADA.**, v.22, p.592-602, 1935.

26. HARA, A.T.; LUSSI, A.; ZERO, D.T. Biological factors. **Monogr Oral Sci.**, v.20, p.88-99, 2006.
27. HOLLAND, G.R.; NARHI, M.N.; ADDY, M.; GANGAROSA, L.; ORCHARDSON, R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. **J Clin Periodontol.**, v.24, p.808-13, 1997.
28. HSU, C.Y.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. **J Dent Res.**, v.79, p.1725-1730, 2000.
29. HSU PJ, CHEN JH, CHUANG FH, ROAN RT. The combined effect of fluoride-containing desensitizer and Nd:YAG laser irradiation on human dentinal tubules: an in vitro study. *Kaohsiung J Med Sci* 2006; 22: 24-29.
30. IMFELD, T. Dental erosion. Definition, classification and links. **Eur J Oral Sci** 1996; 104:151-155.
31. JAEGGI T, LUSSI A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. **Monogr Oral Sci.**, v.20, p.44-65, 2006.
32. JARVINEN, V.; RYTOMAA, I.; HEINONEN, O.P. Risk factors in dental erosion. **J Dent Res.**, v.70, p.942-947, 1991.
33. KIMURA, Y.; WILDER-SMITH, P.; YONAGA, K.; MATSUMOTO, K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. **J Clin Periodontol.**, v.27, p.15-21, 2000.
34. KUMAR, N.G.; MEHTA, D.S. Short-term assessment of the Nd:YAG laser with and without sodium fluoride varnish in the treatment of dentin hypersensitivity--a clinical and scanning electron microscopy study. **J Periodontol.**, v.76, p.1140-1147, 2005.

35. LIU, H.C.; LIN, C.P.; LAN, W.H. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. **J Endod.**, v.23, p.691-693, 1997.
36. LUSSI, A.; JÄGGI, T.; SCHÄRER, S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. **Caries Res.**, v.27, p.387-393, 1993.
37. MARSILIO, A.L.; RODRIGUES, J.R.; BORGES, A.B. Effect of the clinical application of the GaAlAs laser in the treatment of dentine hypersensitivity. **J Clin Laser Med Surg.**, v.21, p.291-296, 2003.
38. MATSUMOTO, K.; FUNAI, H.; SHIRASUKA, T.; WAKABAYASHI, H. Effects of Nd:YAG- laser in treatment of cervical hypersensitive dentine. **Japan Journal of Conserv Dent.**, v.28, p.760–765, 1985.
39. MCKNIGHT-HANES, C.; WHITFORD, G.M. Fluoride release from three glass ionomer materials and the effects of varnishing with or without finishing. **Caries Res.**, v.26, p.345-350, 1992.
40. MOAZZEZ, R.; SMITH, B.G.N.; BARTLETT, D.W. Oral pH and drinking habit during ingestion of a carbonated drink in group of adolescents with dental erosion. **J Dent.**, v.28, p.395–397, 2000.
41. NAYLOR, F.; ARANHA, A.C.; EDUARDO, C.P.; ARANA-CHAVEZ, V.E.; SOBRAL, M.A. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acidic beverages. **Photomed Laser Surg.**, v.24, p.745-752, 2006.
42. PARKER, S. Introduction, history of lasers and laser light production. **Br Dent J.**, v.202, p.21-31, 2007.
43. PASHLEY, D.H. Mechanisms of dentin sensitivity. **Dent. Clin. North Am.**, v.34, p.449-472, 1990.

44. PRATI, C.; MONTEBUGNOLI, L.; SUPPA, P.; VALDRE, G.; MONGIORGI, R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acid drinks. **J Periodontol.**, v.74, p.428-436, 2003.
45. SAURO, S.; GANDOLFI, M.G.; PRATI, C.; MONGIORGI, R. Oxalate-containing phytocomplexes as dentine desensitizers: an in vitro study. **Arch Oral Biol.**, v.51, p.655-664, 2006.
46. SCHEUTZEL, P. Etiology of dental erosion—intrinsic factors. **Eur J Oral Sci.**, v.104, p.178—90, 1996.
47. SCHWARZ, F.; ARWEILER, N.; GEORG, T.; REICH, E. Desensitizing effects of an Er:YAG laser on hypersensitivity dentine. **J Clin Periodontol.**, v.29, p.211-215, 2002.
48. SHAW, L.; SMITH, A.J. Dental erosion – the problem and some practical solutions. **Br Dent J.**, v.186, p.115-118, 1998.
49. de SOUZA-GABRIEL, A.E.; CHINELATTI, M.A.; BORSATTO, M.C.; PECORA, J.D.; PALMA-DIBB, R.G.; CORONA, S.A. Effect of Er:YAG laser irradiation distance on superficial dentin morphology. **Am J Dent.**, v.19, p.217-221, 2006.
50. STABHOLZ A; SAHAR-HELFT S; MOSHONOV J. Lasers in endodontics. **Dent Clin N Am.**, v.48, p.809-832, 2004.
51. STABHOLZ, A.; ZELTSER, R.; SELA, M.; PERETZ, B.; MOSHONOV, J.; ZISKIND, D.; STABHOLZ, A. The use of lasers in dentistry: Principles of operation and clinical applications. **Compendium.**, v.24, p.935-948, 2003.
52. SUNAKAWA, M.; TOKITA, Y.; SUDA, H. Pulsed Nd:YAG Laser Irradiation of the Tooth Pulp in the Cat: II. Effect of Scanning Lasing. **Lasers Surg Med.**, v.26: p.477–484, 2000.

53. TORO, M.J.; LUKANTSOVA, L.L.; WILLIAMSON, M.; ECKERT, G.J.; DUNIPACE, A.J. In vitro fluoride dose-response study of sterilized enamel lesions. **Caries Res.**, v.34, p.246-253, 2000.
54. TURSSI, C.P.; ALVES, V.D.; SERRA, M.C. Suitability of Bovine Root Dentin for Studies on Permeability of Erosion Lesions. **Caries Res.**, v.39, p.287-340, 2005.
55. VANUSPONG, W.; EISENBURGER, M.; ADDY, M. Cervical tooth wear and sensitivity: erosion, softening and rehardening of dentine; effects of pH, time and ultrasonication. **J Clin Periodontol.**, v. 29, p.351-357, 2002.
56. WEST, N.X.; HUGHES, J.A.; ADDY, M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. **J Oral Rehabil.**, v.27, p.875-80, 2000.
57. WHITE, J.M.; GOODIS, H.E.; SETCOS, J.C.; EAKLE, S.; HULSCHER, B.E.; ROSE, C.L. Effects of pulsed Nd:YAG laser energy on human teeth: a three-year follow-up study. **JADA.**, v.124, p.45-51, 1993.
58. YAMADA, M.K.; UO, M.; OHKAWA, S.; AKASAKA, T.; WATARI, F. Three-dimensional topographic scanning electron microscope and Raman spectroscopic analyses of the irradiation effect on teeth by Nd:YAG, Er: YAG, and CO(2) lasers. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.**, v.71, p.7-15, 2004.
59. ZERO, D.T.; LUSSI, A. Erosion – chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. **Int Dent J.** , v.55, p.285-290, 2005.
60. ZERO, DT. Etiology of dental erosion—extrinsic factors. **Eur J Oral Sci.**, v.104, p.162-177, 1996.

Fluxograma: A: Seção dos dentes. B: Isolamento com esmalte cosmético. C: Formação das lesões erosivas. D: Divisão aleatória em 3 grupos: irradiação lasers com Er:YAG; Nd:YAG or Controle (não irradiado). E: Período intra-oral com simulação de desafio erosivo futuro: presente ou ausente. F: Imersão em solução aquosa de sulfato de cobre. G: Imersão em solução alcólica de ácido rubeânico. H: Seção dos fragmentos de dentina com disco diamantado. I: Obtenção de cortes com 250 µm de espessura. J: Mensuração da penetração do corante.

Apêndice

INFORMAÇÕES RELATIVAS AO SUJEITO DA PESQUISA

NOME DO VOLUNTÁRIO: _____

As informações contidas neste prontuário serão fornecidas por Patrícia Marchi (técnica do laboratório de Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, não envolvida na realização desta pesquisa), sob orientação de Fernando Akio Maeda, de Telma Nunes do Nascimento, Monica Campos Serra e de Cecilia Pedroso Turssi, objetivando convidar firmar acordo escrito mediante o qual o voluntário da pesquisa aceita o convite e autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1- ANÁLISE CRÍTICA DOS RISCOS E BENEFÍCIOS

Riscos

Um leve desconforto poderá ser observado em consequência ao uso do dispositivo intrabucal, que é, entretanto, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel.

Os voluntários utilizarão durante período da pesquisa dentifrício fluoretado, não havendo qualquer aumento no risco de cárie dental. Sendo o desafio erosivo realizado *ex-vivo*, os dentes naturais estarão livres de quaisquer riscos de formação de lesões de erosão. Além disso, como os indivíduos continuarão a fazer uso de dentifrício fluoretado e água fluoretada, não haverá risco de desenvolvimento de lesões de erosão no dentes naturais. Outra medida que visa eliminar esse risco é a remoção do dispositivo intrabucal entre as 17:00 e 8:00 h, favorecendo a ação remineralizante da saliva.

O controle de infecção cruzada será garantido através da utilização de dentes extraídos, mantidos em solução de timol e esterilizados com óxido de etileno. Durante a fase laboratorial e clínica será utilizada a indumentária básica, constando de avental, máscara, óculos protetores e luvas. Após a utilização, os instrumentais descartáveis contaminados

serão devidamente eliminados e, os permanentes, lavados, secos e esterilizados em autoclave.

Benefícios

Com base nos resultados a serem obtidos, será possível avaliar se uma solução de bicarbonato de sódio apresenta capacidade de inibição da desmineralização causada por desafios erosivos.

Os voluntários não obterão um benefício direto com o experimento. O benefício será um auxílio indireto, referente às questões respondidas com a realização deste estudo, que são de relevantes para a Dentística e também para a ciência, de uma maneira geral.

2- FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA

Haverá aconselhamento quanto à melhora da higienização bucal. Os pesquisadores envolvidos estarão à disposição dos voluntários para ajustes no aparelho intrabucal a fim de minimizar qualquer desconforto.

3- GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS

O voluntário tem garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de dúvidas quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa, a qualquer hora do dia ou da noite, através de contato verbal, telefônico ou via email, conforme listados abaixo. Para tanto, informamos que o voluntário receberá, em um dispositivo intrabucal, com fragmentos esterilizados de dentina humana, porém de outro indivíduo. Os pesquisadores supracitados também assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Qualquer dúvida ou problema com o dispositivo intrabucal, por favor comunicar-nos com a maior brevidade possível.

Tel: (0xx16) 3602-4068 (Laboratório de Dentística – FORP/USP)

CEL: (0XX11) 8154-6728 (FERNANDO AKIO MAEDA)

EMAIL: FERR_AM@YAHOO.COM.BR (FERNANDO AKIO MAEDA)

4- RETIRADA DO CONSENTIMENTO

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal-profissional com os responsáveis pela pesquisa.

5- GARANTIA DE SIGILO

Os pesquisadores asseguram a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

6- FORMAS DE RESSARCIMENTO

Os voluntários serão ressarcidos de eventuais despesas com o transporte para o comparecimento na FORP-USP para a realização dos procedimentos laboratoriais da pesquisa.

7- FORMAS DE INDENIZAÇÃO

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Por este instrumento particular declaro, para efeitos éticos e legais, que eu (nome) _____, (nacionalidade) _____, (profissão) _____, portador(a) do R.G. nº _____, C.P.F. nº _____, residente e domiciliado(a) à Rua _____, na cidade de _____, fui convidado a participar da pesquisa “Viabilidade do uso do laser no controle da progressão de lesões que simulam hipersensibilidade dentinária: estudo *in situ*”, a ser conduzido sob responsabilidade de Fernando Akio Maeda (RG 32.470.765-4), Telma Nunes do Nascimento (RG 289373), Monica Campos Serra (RG 15643815) e de Cecilia Pedroso Turssi (RG 22.745.413-3) e, para tanto, informamos que o voluntário receberá, em um dispositivo intrabucal, com fragmentos esterilizados de dentina humana, porém de outro indivíduo, nos termos abaixo relacionados, concordo com absoluta consciência com os procedimentos a que vou me submeter para sua realização.

Objetivo: O objetivo deste estudo será avaliar o efeito dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG na perda mineral da dentina erodida e irradiada submetida a desafios ácidos, através de um modelo *in situ*.

Justificativa: Embora os Lasers sejam indicados como medida de tratamento da hipersensibilidade, não há estudos *in situ*, e nem que os relacionam a desafios ácidos.

Procedimento da fase experimental: Será feita a moldagem das arcadas dentais para a confecção de dispositivos intrabucais palatinos, em resina acrílica. Antes da instalação do dispositivo, serão fornecidos ao voluntário, escovas dentais e dentifrícios fluoretados (padronizados), que deverão ser utilizados por todo o período da pesquisa. O estudo consistirá de 2 fases de 5 dias, em que o voluntário utilizará o aparelho das 8:00 as 17:00, exceto durante as refeições e higiene oral. O voluntário realizará a imersão do dispositivo intra-oral *ex vivo* em solução de ácido cítrico pH 3,2 por 90s ou água deionizada enquanto utilizar o dispositivo intrabucal contendo fragmentos esterilizados de dentina erodida. Na outra fase, o enxágüe será com solução alternativa. Ao final de cada etapa, os fragmentos serão removidos dos dispositivos para avaliação da permeabilidade.

Riscos e benefícios: Um leve desconforto poderá ser observado em consequência ao uso do dispositivo intrabucal. Sendo o desafio erosivo realizado extraoralmente, e considerando que os voluntários utilizarão água e dentifrício fluoretados, os dentes naturais estarão livres de quaisquer riscos de formação de lesões de erosão. Para prevenção de infecção cruzada, os fragmentos serão esterilizados, e toda a indumentária básica (avental, máscara, óculos protetores e luvas) e instrumentais estéreis serão utilizados para manuseio dos fragmentos e aparelhos. Os voluntários não obterão um benefício direto com o experimento.

Forma de acompanhamento e assistência: Os pesquisadores envolvidos estarão à disposição dos voluntários para ajustes no aparelho intrabucal a fim de minimizar qualquer desconforto.

Garantia de esclarecimentos: O voluntário tem garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

Retirada do consentimento: O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal-profissional com os responsáveis pela pesquisa.

Garantia de sigilo: Os pesquisadores asseguram a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

- 1- Declaro que recebi todas as informações sobre minha participação neste experimento, possuindo plena liberdade para me abster em participar da referida pesquisa, em qualquer momento, sem prejuízo financeiro, hierárquico ou de qualquer natureza;
- 2- Declaro que fui amplamente informado por um profissional que não está envolvido na pesquisa, sobre os possíveis benefícios e riscos, aos quais me submeterei durante este experimento, tomando conhecimento de que o meu consentimento não exime a responsabilidade do profissional que está executando a pesquisa;
- 3- Declaro, também, ter conhecimento de que todas estas normas estão de acordo com o artigo 35, capítulo XIX do Código de Ética Profissional Odontológica.

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

Ribeirão Preto, ____de ____de 200__.

Assinatura do voluntário

Fernando Akio Maeda
Pesquisador responsável

Telma Nunes do Nascimento
Pesquisador participante

Monica Campos Serra
Pesquisador participante

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

OF.CEP/94/FORP

Ribeirão Preto, 03 de março de 2009.

Prezado Senhor,

Ref.: Processo nº 2008.1.155.58.5

A pedido da Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva, Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, informamos que o referido Comitê em sua 95ª Sessão, realizada em 26 de fevereiro de 2009, **aprovou o Relatório Final** do Projeto de Pesquisa intitulado **"Viabilidade do uso do laser no controle da progressão de lesões que simulam hipersensibilidade dentinária: Estudo *in situ*".**

Atenciosamente,

Luci Rose Nassif Menezes
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa "ad hoc"

Ilmo. Sr.
PÓS-GRADUANDO FERNANDO AKIO MAEDA
Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da FORP/USP