CRISTIANE TOMAZ ROCHA

***INFLUÊNCIA DO LASER DE CO₂ ASSOCIADO AO FLUORETO
ESTANHOSO NO CONTROLE DA EROSÃO INDUZIDA POR ÁCIDO
CLORÍDRICO EM ESMALTE DE DENTES DECÍDUOS – ANÁLISE DO
DESGASTE E DA PERMEABILIDADE***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de Doutor em
Ciências. Programa: Odontopediatria.
Área de Concentração: Odontopediatria.

Orientador: Profa. Dra. Silmara Aparecida
Milorí Corona

Ribeirão Preto-SP

2010

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Rocha, Cristiane Tomaz

Influência do laser de CO₂ associado ao fluoreto estanhoso no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos-análise do desgaste e da permeabilidade. Ribeirão Preto, 2010.

65 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de concentração: Odontopediatria.

Orientador: Corona, Silmara Aparecida Milori.

1. Erosão dentária. 2. Dente decíduo. 3. Laser de CO₂. 4. Flúor. 5. Desgaste dentário. 6. Permeabilidade do esmalte dentário.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Rocha CT. Influência do laser de CO₂ associado ao fluoreto estanhoso no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos-análise do desgaste por perfilometria e da permeabilidade. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Doutor em Ciências. Programa: Odontopediatria. Área de concentração: Odontopediatria.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

CRISTIANE TOMAZ ROCHA

Nascimento	02 de dezembro de 1979 – Fortaleza/CE
Filiação	Ronaldo Martins Rocha Maria Josiane Tomaz Rocha
2000-2004	Curso de Graduação Universidade Federal do Ceará - UFC
2005-2007	Especialização em Odontopediatria Associação Odontológica de Ribeirão Preto - AORP
2005-2007	Curso de Aperfeiçoamento no Atendimento Odontológico a Pacientes Especiais Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP
2006	Curso de Aperfeiçoamento no Atendimento Odontológico a Bebês Normais e Especiais Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP
2005-2007	Curso de Pós-graduação (Mestrado) em Odontologia Área de Concentração: Odontopediatria Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP
2008-2010	Curso de Pós-graduação (Doutorado) em Odontologia Área de Concentração: Odontopediatria Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP

OFEREÇO ESTE TRABALHO

A Deus,

Foi a tua mão que encontrei estendida,
quando realmente precisei. Foram teus olhos
que fixei, quando me senti só. Tuas palavras
me orientaram, mostrando o caminho
correto, que eu não encontrava. Obrigada
Senhor, por me fazer chegar até aqui, por me
guiar e por me segurar em todos momentos
da minha vida!

DEDICO ESTE TRABALHO,

Aos meus pais, *Ronaldo Martins Rocha* e *Maria Josiane Tomaz Rocha*, por me apoiarem em todas as etapas da minha vida, por confiarem no meu potencial, por me mostrarem os valores e os princípios éticos e morais dos quais jamais me afastei, por compreenderem a minha ausência de casa constante e por lutarem arduamente em prol da minha educação. Espero ter retribuído e ainda retribuir tudo que fizeram por mim! Hoje, três doutores concluem essa tese de doutorado, porque sei que meus sonhos estão entre os de vocês! Nessa estrada de minha vida, vocês foram e serão os meus melhores professores! O que sou hoje devo a vocês! Amo muito!

Aos meus irmãos, *Ronaldo Martins Rocha Filho* e *Ticiane Tomaz Rocha*, que fizeram e ainda fazem papel especial na minha vida! Me sinto como responsável por vocês, por cuidar, por apoiar e até mesmo brigar, faz parte também... Mas o que realmente importa é o meu sentimento verdadeiro que tenho. Saudades do convívio!

À minha avó *Ana Teles de Menezes Tomaz* (*in memoriam*), que mesmo não estando mais entre nós, é muito especial para mim. Assim como na aprovação do vestibular, tenho certeza que hoje uma vela também se acende no céu por mais essa conquista! Obrigada por sempre torcer e rezar por mim, voinha! Saudades sempre!

Ao meu avô, *Joaquim Arnóbio Tomaz*, que desde criança me incentivou a estudar, sempre ressaltando que uma "pessoa sem estudo não é ninguém"! Agradeço a Deus por ainda comemorar essa vitória ao seu lado!

A minha avó *Ivone Dias Rocha*, que mesmo não compreenda muito bem essas minhas idas e vindas a Fortaleza, sempre me recebe com muito carinho e amor. Sendo sua primeira neta, espero ter retribuído tudo o que fez por mim!

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

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha orientadora *Profª. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona*, que com sua amabilidade e paciência soube conduzir esse meu curso! Aprendi e cresci muito sob a sua orientação. Seus inúmeros ensinamentos serão fundamentais para minha formação e amadurecimento profissional. Obrigada pela sua disponibilidade e pelo conhecimento científico dispensado a este trabalho! Obrigada ainda pelo apoio constante em minhas decisões, por compreender minhas falhas e minhas angústias! Acredito que “anjo” foi a senhora e não eu como sempre me chamava!

À *Profª. Dra. Cecília Pedroso Turssi*, que sempre confiou no meu potencial e sempre mostrou-se disponível para ajudar e incentivar! Agradeço pela colaboração com análise estatística deste trabalho, orientação em trabalhos e por ter aberto portas no meio científico. Obrigada pelas palavras de carinho e de apoio!

Ao *Prof. Dr. Anderson Takeo Hara*, por ter me aceito e me recebido muito bem no meu doutorado sanduíche! Pela inestimável colaboração e preocupação no desenvolvimento deste trabalho como se fosse meu verdadeiro orientador. Obrigada pela disponibilidade, atenção e paciência. Meus sinceros agradecimentos.

Ao *Prof. Dr. Domenick Zero* por ter me aceito em seu centro de pesquisa, por colaborar com a execução deste trabalho e por me incentivar e ajudar com seus conhecimentos e ensinamentos. Obrigada por tudo!

À *Profª. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva*, por ter reconhecido meu potencial. A senhora é exemplo de profissional e pesquisadora em Odontopediatria. Obrigada por compreender minha distância de casa. Agradeço ainda pelo incentivo constante na vida acadêmica, por toda a atenção e carinho. Obrigada por tudo!

Ao *Prof. Dr. Paulo Nelson Filho*. Pesquisador competente. Exemplo a ser seguido. Espero poder levar seus ensinamentos me tornando uma pessoa mais digna e competente! Obrigada, professor!

À *Profª. Dra. Alexandra Mussolino de Queiroz*, exemplo digno de professora e amiga. Obrigada por ouvir minhas lamentações ou problemas, por confiar em mim, por me incentivar a ser mais do que aluna e me mostrar o papel de uma mulher! Obrigada ainda por sempre me orientar nos trabalhos! Obrigada "Danda" por hoje eu te reconhecer como uma professora-amiga!

À *Profª. Dra. Mônica Campos Serra* que sempre me recebeu muito bem e mostrou-se amável e disponível a ajudar. Sua inteligência e competência são fontes de inspiração para mim! Obrigada!

MEUS AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa de sua Diretoria, *Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon* e do Vice-Diretor *Prof. Dr. Waldemar Mallette da Rocha Barros*.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da coordenadora *Profª. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva* e do Vice-Coordenador *Prof. Dr. Paulo Nelson Filho*, por terem me concedido a oportunidade para trilhar o início da minha carreira neste conceituado Programa de Pós-graduação.

Aos docentes do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP, *Profª. Dra. Aldevina Campos de Freitas*, *Profª. Dra. Alexandra Mussolino de Queiroz*, *Prof. Dra. Andiana Rossi*, *Prof. Dr. Fábio Romano*, *Prof. Dr. José Tarcísio Lima Ferreira*, *Profª. Dra. Kranya Victória Díaz Serrano*, *Profª. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva*, *Prof. Dr. Mário Roberto Leonardo*, *Profª. Dra. Maria Bernadete Sasso Stuaní*, *Profª. Dra. Maria Conceição Pereira Saraiva*, *Profª. Dra. Maria Cristina Borsatto*, *Profª. Dra. Mírian Aiko Nakane Matsumoto*, *Prof. Dr. Paulo Nelson Filho*, *Profª. Dra. Raquel Assed Bezerra da Silva*, *Profª. Dra. Sada Assed*, pela atenção, orientação e ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, *Fátima Aparecida Jacinto Daniel*, *Marco Antônio dos Santos*, *Cleber Barbosa Rita*, *Vera Ribeiro do Nascimento*, *José Aparecido Neves do Nascimento* e *Carmo Eurípedes Terra Barreto* pelo carinho e atenção dispensada.

Aos funcionários do "Centro de Formação de Recursos Humanos Especializados no Atendimento Odontológico de Pacientes Especiais", *Benedita Viana Rodrigues*,

Fátima Rizóli, Naadir Felício e Renata Aparecida Fernandes Rodrigues, pelo carinho e atenção constante.

Ao professor *Antônio Luiz Rodrigues Júnior* pela ajuda essencial na realização de parte da análise estatística deste trabalho.

À secretária da Pós-graduação do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social *Micheli Cristina Leite Rovanholo* pelo carinho, atenção e paciência em todos os momentos.

Aos secretários da Graduação do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social *Filomena Leli Placitti* e *Matheus Morelli Zanella* pela ajuda essencial em vários momentos!

À *Isabel Cristina Galino Solá* e à *Regiane Cristina Moi Sacilotto*, funcionárias da Seção de Pós-graduação por toda atenção e auxílio nesta etapa da minha vida.

À *Patrícia Marchi*, técnica do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP, pela colaboração e atenção durante meu curso de Doutorado e pela disposição na execução da parte experimental deste trabalho.

A *Profª. Dra. Raquel Assed Bezerra da Silva*, que sempre mostrou compreensiva e companheira, dentro ou fora dos muros da USP. Obrigada pela sua amizade e por me acompanhar em todos os momentos, sejam bons ou ruins! Terei saudades, amiga!

À grande amiga *Ivna Fernandes Queiroz*, que mesmo distante fisicamente, sempre me incentivou a fazer este curso de doutorado, mesmo diante dos meus momentos de incerteza. Dizem que nós reconhecemos os verdadeiros amigos em momentos difíceis, mas é impressionante que eu nunca tive dúvidas com relação a sua amizade

em todos os momentos! Hoje, mesmo não estando mais presente em Ribeirão Preto, também não poderia esquecer de você! Te adoro!

À minha amiga *Patrícia Motta Fernandes*. Um ditado diz que as pessoas entram na sua vida por uma "Razão", uma "Estação" ou uma "Vida Inteira". Mesmo a distância, tenho certeza que nossa amizade será pela vida inteira!

À minha amiga fiel *Carla de Oliveira David*, apesar de não ser conveniente citar quantos anos têm a nossa amizade, é válido destacar que há inúmeros motivos para te ter como amiga. Quando penso em você, a primeira coisa que vem em minha cabeça é que no momento que mais precisei em minha vida, você estava ali do meu lado... isso não irei esquecer! Adoro muito!

A minha amiga *Michele Baffi Diniz*, por ter me acolhido muito bem em Indianópolis, ter gastado junto comigo e por ainda manter uma amizade verdadeira aqui no Brasil! Sua amizade foi meu "upgrade"!

À *Carolina Paes Torres Mantovani*, por ter me ajudado em muitos momentos. Obrigada por toda compreensão e carinho!

Às minhas amigas de Fortaleza *Anna Karine Macedo Teixeira*, *Beatriz de Brito Bezerra*, *Beatriz Gonçalves Neves*, *Caroline Gadelha Cavalcanti*, *Brenda Fontenele*, *Manuela Almeida Furtado*, *Manuela Gomes*, *Cristiane Fônsaca*, *Rafaelly Cabral*, *Luciana Waki*, *Denise Carvalho* e *Keliny Teixeira*, que mesmo distantes me apoiaram na decisão e no decorrer do doutorado. Nada teria conseguido se não fosse pela amizade de vocês!

Ao meu amigo *Rômulo Rocha Regis*, por compreender todas as minhas angústias, por ouvir as minhas reclamações e desabaços, me incentivar em cada momento de minha vida, por sorrir e comemorar comigo nas minhas vitórias, por aturar as

minhas músicas elaboradas repentinamente e me acompanhar nas dietas mais loucas. Obrigada pelo acolhimento em sua casa e pelo convívio maravilhoso no início do doutorado! Tenha certeza que suas palavras, seus conselhos e suas orientações me ajudaram a chegar até aqui! Agora, você não vai mais escutar eu dizer: "Por que eu inventei?", mas sim: "Porque eu inventei!!!" Obrigada "Mualdo!"

Ao meu amigo *Patrício José de Oliveira Neto* que sempre me incentivou e sempre esteve disposto a ajudar! Obrigada por suas palavras, seus conselhos e seu ombro amigo! Mesmo distante agora, tenho certeza que ainda torce em cada vitória minha! Obrigada "Patric!"

Às minhas amigas companheiras de casa, *Paula Vasconcelos Araújo* e *Maria Amélia Aquino Montenegro de Andrade*, pela convivência agradável e por me fazerem sentir perto de casa. Em pouco tempo de convivência, obrigada por terem sido meus pais e meus irmãos em Ribeirão Preto!

À minha amiga *Késsia Suênia de Fidelis Mesquita* que pelo pouco tempo de amizade, você soube me mostrar o sentido de uma amizade verdadeira. Obrigada por ouvir sempre meus problemas, por me dar conselhos, por me acompanhar na academia... Enfim, obrigada por ser minha amiga!

Às amigas da república rep-amigas *Marcela Martin del Campo Fierro*, *Maria Castela* e *Talitha de Siqueira Mellara* por me acolherem muito em sua república, pelos encontros, fofocas e comilanças! Adoro vocês!

À minha amiga *Taísa Penazzo Lepri* que sempre se mostrou disponível e amável para me ajudar. Obrigada ainda por ter sua amizade!

Aos amigos da pós-graduação do Departamento de Odontologia Restauradora, *Taísa Penazzo Lepri*, *Juliana Jendiroba Faraoni Romano*, *Sandra Chiga*, *Renata Siqueira*

Scatolin, Daniel Galafassi, Dinah Ribeiro Amorás pela agradável convivência e pela ajuda que proporcionaram no laboratório.

Aos amigos da pós-graduação de Reabilitação Oral *Ana Paula Terossi de Godoy, Lariza Barbosa Raimundo, Humberto Oliveira Pinto* e *Letícia Davi* por me incentivarem e me ajudarem em muitos momentos!

Ao amigo *Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva* por me incentivar na vida acadêmica e por sempre mostrar disponível e atencioso para ajudar. Obrigada por tudo!

As ex-alunas de doutorado do curso de Pós-graduação em Odontologia Restauradora *Vivian Colucci, Danielle Cristine Furtado Messias* e *Aline Evangelista de Souza Gabriel*, por toda atenção e carinho e pela ajuda essencial na execução deste trabalho.

Aos amigos *Ingrid Machado de Andrade, Marcos Teixeira dos Santos, Matheus Alves de Amorim, Patrícia Costa Cruz, Sarah Stephania Jorge, Taciene dos Reis Machado, Thaíse Graciele Carrasco*, por me acolherem muito bem em Ribeirão e ter sido amigos verdadeiros em todos os momentos. Obrigada!

À amiga *Taiana de Melo Dias*, que agora longe do meu convívio, sempre se mostrou amiga, conselheira e amável! Obrigada por sempre me receber bem em sua casa e pela sua amizade!

Aos colegas de turma do doutorado *Ana Larissa Fernandes de Holanda, Carolina Paes Torres Mantovani, Fabrício Kitazono de Carvalho, Maristela Soares Swerts Pereira, Daniel Silva Herzog Flores, Jaciara Gomes Miranda Silva, Cristhiane Ristum Baqatin Rossi, Regina Aparecida Segato Saiani, Rodrigo Teixeira Macri e Soraya Dibb Sheyer Gonçalves*, pela amizade, convivência e experiências compartilhadas no decorrer do curso de Pós-Graduação, tornando essa jornada agradável e produtiva.

Aos demais alunos do doutorado do Curso de Pós-graduação em Odontopediatria *Cristina Bueno Brandão, Giselle de Angelo Souza Leite, Kleber Cortes Bonifácio, Larissa Moreira Spinola de Castro, Leonardo Biscaro Pereira, Marcela Cristina Damião Andrucio, Marina Fernandes de Sena, Marta Estela Saravia, Marta Maria Martins Giamatei Contente, Maya Fernanda Manfrin Arnez, Milena Silva Campos, e Walter Raucci Neto* pela agradável convivência.

Aos alunos do mestrado do Curso de Pós-graduação em Odontopediatria *Cíntia Guimarães de Almeida, Camila Scatena, Danielle Torres de Azevedo, Elaine Machado Pingueiro, Fernanda Regina Ribeiro Santos, Iliana Ferraz Sabatini, Késsia Suênia Fidelis de Mesquita, Lígia Maria Napolitano Gonçalves, Luciane Almeida do Carmo, Marcela Martin del Campo Fierro, Marília Pacífico Lucisano, Paula Dariana Fernandes Ferreira, Rodrigo Alexandre Valério e Talitha de Siqueira Mellara* por me ajudarem sempre e por proporcionarem uma agradável convivência. Saudades!

Ao *Júlio César de Matos* e *Cláudia Regina Côrrea de Matos*, pela diagramação e impressão deste trabalho.

À **Fapesp** (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio financeiro por meio do processo 2008/01256-0.

A todas as pessoas que, de algum modo, contribuíram para a concretização deste trabalho.

RESUMO

ROCHA, CT. **Influência do laser de CO₂ associado ao fluoreto estanhoso no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos - análise do desgaste e da permeabilidade.** [tese] - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2010.

Diante da importância e prevalência da erosão em crianças, devido principalmente ao refluxo gastroesofágico e da ausência de estudos na literatura sobre os efeitos do laser de CO₂ no controle da erosão induzida por ácido clorídrico, o objetivo deste estudo foi determinar a influência *in vitro* de diferentes potências do laser de CO₂ associado ao fluoreto estanhoso a 0,4% no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos, por meio da análise do desgaste e da permeabilidade. Sessenta dentes decíduos foram utilizados para a obtenção de 120 fragmentos de esmalte (3x3 mm). Os fragmentos foram planificados, polidos e montados em blocos de resina acrílica. Duas fitas adesivas foram colocadas na superfície, deixando uma área de 3x1mm² exposta. Para a formação das lesões de erosão, os espécimes foram submetidos a um desafio ácido de 4 ciclos por 2 minutos cada, com solução de ácido clorídrico a 0,01 M (pH 2). A análise do desgaste inicial foi calculada por perfilometria óptica e usada para selecionar 104 espécimes. Estes foram aleatoriamente divididos em 8 grupos, de acordo com a aplicação de flúor (presente- gel de fluoreto estanhoso a 0,4% e ausente-controle) e potência do laser de CO₂ (sem irradiação-controle, 0,5 W, 1 W, 1,5 W). Metade dos espécimes foram submetidos a uma única aplicação do gel fluoretado por 1 minuto com o auxílio de um microbrush. A irradiação com laser de CO₂ foi realizada no modo ultrapulso, duração do pulso de 100µs e desfocado a uma distância de 4 mm do esmalte. Após a realização dos tratamentos, desafios erosivos sucessivos foram realizados durante 5 dias, utilizando o mesmo protocolo descrito anteriormente. A análise do desgaste final foi calculada por perfilometria óptica. Para análise da permeabilidade, os espécimes foram submetidos a um método de coloração histoquímica, utilizando-se soluções de sulfato de cobre e de ácido rubeânico. Da região delimitada, obtiveram-se secções que foram digitalizadas sob microscopia óptica e submetidas à avaliação da penetração de íons cobre em relação à espessura total do esmalte. Foram realizadas, em cada secção, cinco avaliações da penetração dos íons cobre, totalizando quinze leituras por espécime. Os dados da análise do desgaste foram submetidos a ANOVA a dois critérios e a interação entre os fatores aplicação de flúor e potência do laser de CO₂ foi significativa ($p = 0,046$). Entretanto, pela análise da permeabilidade, a ANOVA a dois critérios não mostrou interação entre os fatores ($p = 0,591$). Efeito significativo do fator potência do laser de CO₂ foi observado ($p = 0,037$), sendo que a potência de 1,5 W proporcionou aumento da permeabilidade do esmalte quando comparado a 0,5 W. A correlação entre as análises do desgaste e permeabilidade não foi significativa ($p = 0,699$). Conclui-se, pela análise do desgaste, que o laser de CO₂ com 1W associado ao fluoreto estanhoso a 0,4% pode ser um método efetivo no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos. A análise da permeabilidade não evidenciou sinergismo entre a aplicação de fluoreto

estanhoso a 0,4% e as potências do laser de CO₂. A potência do laser de CO₂ de 0,5 W proporcionou menor permeabilidade no esmalte erodido quando comparada a de 1,5 W. A análise do desgaste não apresentou correlação com a análise da permeabilidade em esmalte de dentes decíduos submetidos a desafios erosivos por ácido clorídrico.

Palavras-chave: erosão dentária, dente decíduo, laser de CO₂, flúor, desgaste dentário, permeabilidade do esmalte dentário

ABSTRACT

ROCHA, CT. **Influence of CO₂ laser associated to stannous fluoride in the erosion control induced by hydrochloric acid on enamel of primary teeth – wear and permeability analysis.** [tese] - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2010.

Facing importance and prevalence of erosion in children, mainly due to gastroesophageal reflux and absence of studies evaluating effects of CO₂ laser in control erosion induced by hydrochloric acid, the aim of this study was to determine *in vitro* influence of different CO₂ laser powers associated with 0.4% stannous fluoride erosion control induced by hydrochloric acid on enamel of primary teeth by wear and permeability analysis. Sixty primary teeth were used to obtain 120 enamel fragments (3x3 mm). Fragments were flattened, polished and fixed in resin blocks. Two piece of tapes were placed on the surface, leaving an exposed area 3x1mm². For the formation of erosion lesions, specimens were submitted to an acid challenge by 4 cycles of 2 minutes each, with 0.01 M hydrochloric acid solution (pH 2). Initial wear analysis was calculated by optical profilometry and used to select 104 specimens. These were randomly assigned into 8 groups according to fluoride application (present-gel 0.4% stannous fluoride and absent-control) and CO₂ laser power (no irradiation control, 0.5 W, 1 W, 1.5 W). Half of specimens were submitted to a single fluoride application for 1 min with microbrush. CO₂ laser irradiation was performed in a ultrapulsed, 100µs pulse duration at a distance of 4 mm of enamel. After treatments, erosive challenges were performed for 5 successive days using the same protocol described above. Final wear analysis was calculated by optical profilometry. For permeability analysis, specimens were submitted to histochemical coloring method, using copper sulphate and acid rubeanic solutions. It was obtained sections from exposed area which were scanned under light microscopy and evaluated for copper ions penetration in relation to the total thickness of enamel. In each section, five evaluations of copper ions penetration were performed, resulting in fifteen readings per specimen. Data wear analysis were submitted to two-way ANOVA and interaction between factors fluoride application and CO₂ laser power was significant ($p = 0.046$). However, permeability analysis, two-way ANOVA showed no interaction between factors ($p = 0.591$). Significant effect of CO₂ laser power was found ($p = 0.037$), and 1.5 W power provided an increase of enamel permeability compared to 0.5 W. Correlation between wear and permeability analysis was not significant ($p = 0.699$). CO₂ laser using 1W associated with 0.4% stannous fluoride can be an effective method to erosion control induced by hydrochloric acid on enamel of primary teeth. Permeability analysis showed no synergic effect between 0.4% stannous fluoride application and CO₂ laser powers. CO₂ laser power of 0.5 W provided the lowest permeability of enamel erosion compared to 1.5 W. Wear analysis showed no correlation with permeability analysis of primary teeth enamel submitted to erosion by hydrochloric acid challenges.

Key words: tooth erosion, tooth deciduous, CO₂ laser, fluoride, tooth wear, dental enamel permeability

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 PROPOSIÇÃO	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Delineamento experimental	28
3.2 Aspectos éticos	28
3.3 Seleção e preparo dos espécimes	28
3.4 Preparo das soluções	29
3.5 Formação de lesões de erosão	33
3.6 Análise do desgaste inicial	33
3.7 Aplicação de fluoreto estanhoso a 0,4% e irradiação com laser de CO ₂	33
3.8 Desafios erosivos sucessivos	34
3.9 Análise do desgaste final	34
3.10 Método de coloração histoquímica	36
3.11 Avaliação da permeabilidade	36
3.12 Análise estatística	36
4 RESULTADOS	38
4.1 Análise do desgaste	39
4.2 Análise da permeabilidade	39
4.3 Correlação entre desgaste e permeabilidade	40
5 DISCUSSÃO	41
4.1 Análise do desgaste	42
4.2 Análise da permeabilidade	48
4.3 Correlação entre desgaste e permeabilidade	50
6 CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	53
ANEXO	
APÊNDICE	

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Com o declínio da prevalência da cárie dentária no Brasil (Cury *et al.*, 2004), bem como nos países desenvolvidos (Wang e Lussi, 2010), um maior interesse em outras alterações dentais, como a erosão, tem sido enfatizado (Lussi e Jaeggi, 2006; Wang e Lussi, 2010).

Esta alteração é definida como a perda irreversível da estrutura dental por ácidos de origem não bacteriana (Imfeld, 1996; Lussi *et al.*, 2006). A sua etiologia é considerada multifatorial (Lussi, 2006), e as fontes de ácido são de origem extrínseca, encontradas na dieta, como alimentos e bebidas ácidas, nos medicamentos, como a vitamina C, e nos casos de exposição ácida no trabalho ou em atividades de lazer (Zero, 1996; Lussi *et al.*, 2004; Lussi e Jaeggi, 2006), e de origem intrínseca, provenientes da regurgitação, doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) e vômitos recorrentes, nos casos de bulimia, anorexia e gravidez (Bartlett, 2006). Além disso, alguns fatores de risco biológicos estão envolvidos, como fluxo salivar, capacidade tampão da saliva, película adquirida, composição dental, anatomia dental e resistência ácida dos dentes (Lussi *et al.*, 2004; Hara *et al.*, 2006).

Com relação a anatomia dental, deve-se destacar que algumas condições críticas estão presentes nos dentes decíduos como o fato de possuírem menor espessura de esmalte e dentina (Wilson e Beynon, 1989; Meurman e Ten Cate, 1996; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010) bem como elevada solubilidade a ácidos, sendo, assim, mais suscetíveis à erosão (Millward *et al.*, 1994; Harley, 1999; Hunter *et al.*, 2000b; Johansson *et al.*, 2001; Ersin *et al.*, 2006; Kazoullis *et al.*, 2007). Além disso, o alto grau de porosidade do esmalte (Fejerskov *et al.*, 1987; Lussi *et al.*, 2000; Lippert *et al.*, 2004), o baixo grau de mineralização (Naujoks *et al.*, 1967; Thylstrup *et al.*, 1976; Wilson e Beynon, 1989; Meurman e Ten Cate, 1996; Hunter *et al.*, 2000b; Lippert *et al.*, 2004; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010) e as diferenças no conteúdo mineral (Cutress, 1972; Amaechi *et al.*, 1999; Hunter *et al.*, 2000b; Correr *et al.*, 2007; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010) dos dentes decíduos são agravantes à perda tecidual decorrente da erosão. Assim, uma maior ênfase deve ser atribuída a erosão dental de crianças, uma vez que a progressão é mais rápida no esmalte de dente decíduo comparado ao dente permanente

(Amaechi *et al.*, 1999; Johansson *et al.*, 2001). Além disso, a erosão na dentição decídua, que ocorre principalmente em molares (Ganss *et al.*, 2001; Dahshan *et al.*, 2002), prediz o risco ao desgaste dental por erosão na dentição permanente (Ganss *et al.*, 2001).

Diante dessa maior suscetibilidade dos dentes decíduos, a prevalência da erosão dental é alta em crianças (Millward *et al.*, 1994; Downer, 1995; Jones e Nunn, 1995; Kazoullis *et al.*, 2007; Taji *et al.*, 2010), variando de 14 a 76% quando associada ao DRGE (Aine *et al.*, 1993; O'Sullivan *et al.*, 1998; Shaw *et al.*, 1998; Dahshan *et al.*, 2002; Linnett *et al.*, 2002; Ersin *et al.*, 2006). Segundo Ersin *et al.*, em 2006, a prevalência de erosão em pacientes com DRGE é de 19% para os dentes decíduos e 10% para os dentes permanentes, em comparação com o grupo controle (5% e 2%, respectivamente).

O refluxo gastroesofágico (RGE) é o fluxo retrógrado, repetido e involuntário do conteúdo gástrico para o esôfago (Vandenplas *et al.*, 1993), que pode consistir de gás (eructação) ou fluido (regurgitação). O RGE é frequente em crianças, constituindo uma das principais condições gastroenterológicas (Penna e Norton, 2000). Esta condição apresenta grande interesse sob o ponto de vista odontológico porque a acidez do conteúdo gástrico que atinge a cavidade bucal pode ter pH entre 1,5 a 3 (Larsen, 1997; Ten Cate *et al.*, 2008), o qual pode dissolver os cristais de hidroxiapatita do esmalte, uma vez que do pH crítico deste tecido é em torno de 5,5 (Ten Cate *et al.*, 2008).

Estudos mostraram que, embora muitos fatores contribuam para a ocorrência do RGE, o principal fator etiológico é o relaxamento transitório frequente do esfíncter esofágico inferior (Cucchiara *et al.*, 1993; Kawahara *et al.*, 1997).

Em crianças, a prevalência dos picos de RGE se dá entre o primeiro e quarto meses de vida (Orenstein, 1997), e usualmente se resolve entre o sexto e o décimo segundo meses (Vandenplas *et al.*, 1998). Assim, o RGE pode ser de dois tipos, o de curta duração, que ocorre após as refeições e é dito refluxo fisiológico (Shepherd *et al.*, 1987; Rudolph *et al.*, 2001), e o de longa duração, sendo estes episódios chamados de refluxos patológicos, caracterizando a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) (Rudolph *et al.*, 2001; Hassall, 2005; Dent *et al.*, 2005). Este é definido como a presença de sintomatologia ou complicações do RGE, quando o conteúdo gástrico reflui para dentro do

esôfago ou orofaringe (Davies e Sandhu, 1995; Rudolph *et al.*, 2001). Manifestações da DRGE podem ser divididas em esofágicas e extra-esofágicas, e incluem algumas repercussões clínicas esofágicas como vômito, disfagia, dor abdominal e esofagite. Dentre as extra-esofágicas, destacam-se erosão dental, tosse, laringite, faringite, sinusite, otite média recorrente, fibrose pulmonar idiopática e asma (Vakil *et al.*, 2006).

O RGE pode ainda ser oculto, quando os sintomas de regurgitação e vômito estão ausentes. Muitas complicações respiratórias podem estar associadas devido à aspiração ou via reflexos esofágico-respiratórios. Em refluxos ocultos, a erosão dental pode ser o único sinal clínico do RGE (Aine *et al.*, 1993; Schoroeder *et al.*, 1995; Bartlett *et al.*, 1996; Shaw *et al.*, 1998; Dahshan *et al.*, 2002; Benages *et al.*, 2006). Numa revisão sistemática da literatura, constatou-se que muitas crianças com sintomas de DRGE apresentavam sintomas extraesofágicos, com destaque para a erosão dental (Tolia e Vandenplas, 2009).

Dentre os recursos terapêuticos para o controle da erosão dental decorrente da DRGE, a aplicação de fluoretos foi preconizada (Büyükyilmaz *et al.*, 1997; Jones *et al.*, 2002; Willumsen *et al.*, 2004; Saunders e McIntyre, 2005; Hove *et al.*, 2006; Hove *et al.*, 2007). O efeito protetor do flúor contra a perda de substância dentária por erosão é devido à formação de mineral tipo fluoreto de cálcio (CaF_2) na superfície do esmalte (Büyükyilmaz *et al.*, 1997).

Estudos *in vitro* avaliaram o efeito de fluoretos no controle de erosão induzida por ácido clorídrico (HCl). Hove *et al.* (2006) avaliaram a aplicação de três tipos de fluoretos por 2 minutos seguida da imersão em HCl a 0,01M (pH 2) e encontraram que as amostras tratadas com tetrafluoreto de titânio (TiF_4) e fluoreto estanhoso (SnF_2) mostraram redução da erosão. Além disso, Willumsen *et al.* (2004) encontraram que o pré-tratamento com SnF_2 reduziu a dissolução do esmalte quando exposto ao HCl a 0,01M (pH 2.2). Os melhores resultados do SnF_2 na proteção do esmalte possivelmente deve-se à formação de uma camada na superfície do esmalte com pequena dissolução em ácidos (Hove *et al.*, 2006).

O SnF_2 tem apresentado bons resultados no controle de lesões de erosão induzidas por ácido clorídrico, uma vez que o íon de estanho reage com hidroxiapatita pura (Jordan *et al.*, 1971; Babacock *et al.*, 1978) e com a

superfície do tecido dental duro (Petzold, 2001), propiciando uma redução da solubilidade da hidroxiapatita e, conseqüentemente, do esmalte (Barbakow *et al.*, 1984.; Schlueter *et al.*, 2009a). Além disso, este íon não é apenas mantido na superfície do dente, mas pode ser também incorporado no esmalte erodido, formando uma superfície estruturalmente modificada e menos solúvel em ácido (Schlueter *et al.*, 2009b).

Entretanto, a aplicação tópica de flúor apresenta uma eficácia limitada na redução de perdas minerais diante do desafio erosivo (van Rijkom *et al.*, 2003; Larsen, 2001; Larsen *et al.*, 2002), inclusive em dentes decíduos (Magalhães *et al.*, 2009; Murakami *et al.*, 2009). Desta forma, faz-se necessário a avaliação de outras técnicas que possam agir como alternativa no controle da erosão em dentes decíduos.

Recentemente, a tecnologia laser tem sido usada em muitas aplicações na Odontologia. O laser de CO₂ foi desenvolvido por Patel *et al.*, em 1964, e seu comprimento de onda é o mais apropriado para a utilização no esmalte dentário, pois produz radiação na região do infravermelho que coincide com algumas bandas de absorção da hidroxiapatita, principalmente os grupos fosfato e carbonato (Featherstone *et al.*, 1998). Assim, um maior efeito preventivo pode ser obtido com menor ocorrência de danos aos tecidos dentários (Zuerlein *et al.*, 1999). Com este laser, a energia é absorvida nos poucos micrometros externos da superfície do esmalte e convertida em calor, causando perda de carbonato do mineral e fusão dos cristais de hidroxiapatita, tendo como consequência uma diminuição na reatividade ácida da estrutura dentária (Nelson *et al.*, 1986; Nelson *et al.*, 1987; Featherstone e Nelson, 1987; Hsu *et al.*, 1994; Featherstone *et al.*, 1998; Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000; Tsai *et al.*, 2002; Klein *et al.*, 2005; Steiner-Oliveira *et al.*, 2008).

Para a prevenção da cárie dentária, o real mecanismo da irradiação com laser de CO₂ não está totalmente esclarecido, porém sugere-se que ele seja capaz reduzir a desmineralização do esmalte (Hossain *et al.*, 1999; Hsu *et al.*, 2000; Tepper *et al.*, 2004; Klein *et al.*, 2005). Neste tecido, pode haver uma redução da permeabilidade a agentes químicos causados pelo derretimento da superfície do esmalte (Stern *et al.*, 1972), redução da solubilidade ocasionada pelo derretimento e recristalização dos cristais de hidroxiapatita ou pela mudança de solubilidade da apatita aquecida pela formação de compostos

fosfatados menos solúveis (Nelson *et al.*, 1986; Nelson *et al.*, 1987) ou alteração da matriz orgânica que normalmente já desempenha um papel protetor em situações de desafio ácido (Hsu *et al.*, 2000; Hsu *et al.*, 2001).

Em dentes permanentes, alguns parâmetros já foram analisados para a prevenção de cárie dentária (Esteves-Oliveira *et al.*, 2009). Entretanto, parâmetros ideais para controle da erosão dental ainda não foram estudados. Somente alguns estudos (Tagliaferro *et al.*, 2007; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2009) avaliaram a potência de 1W em dentes decíduos.

Porém, a inibição da desmineralização dentária pelo laser de CO₂ ocorre principalmente quando associado a agentes fluoretados (Hsu *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2006; Tagliaferro *et al.*, 2007; Steiner-Oliveira *et al.*, 2008). Uma hipótese que explica o sinergismo destes tratamentos é decorrente do aumento da reatividade do esmalte aos fluoretos, uma vez que a combinação laser de CO₂-fonte de fluoreto pode favorecer a deposição de “CaF₂”, servindo como reservatório de flúor (Chin-Ying *et al.*, 2004; Tepper *et al.*, 2004). Este mecanismo está associado a formação de pequenas fendas ou crateras na superfície do substrato irradiado que permitiriam maior difusão dos íons flúor no interior do esmalte (Ten Cate, 1999), e dificultariam a solubilização do substrato diante de episódios erosivos. Outro mecanismo enfatiza o papel do laser de CO₂ no aumento da incorporação de flúor dentro da estrutura cristalina na forma de flúor fortemente ligado, a fluorapatita (Meurman *et al.*, 1997; Chin- Ying *et al.*, 2004). A formação deste composto é dependente da presença de flúor na ocasião da irradiação para que este íon seja aprisionado dentro do cristal de hidroxiapatita.

Apesar do laser de CO₂ ter sido aplicado na inibição da desmineralização de esmalte em lesões de cárie *in vitro* (Tsai *et al.*, 2002; Tepper *et al.*, 2004; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006), incluindo em dentes decíduos (Tagliaferro *et al.*, 2007; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009), bem como na redução da erosão provocada por ácidos de origem extrínseca (Steiner-Oliveira *et al.*, 2010; Wiegand *et al.*, 2010), não há estudos avaliando a influência da potência deste laser no controle da erosão induzida por ácido clorídrico, principalmente quando associado ao fluoreto estanhoso em esmalte de dentes decíduos.

PROPOSIÇÃO

2 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo determinar a influência *in vitro* da potência do laser de CO₂ associado ao fluoreto estanhoso a 0,4% no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos, por meio da análise do desgaste, análise da permeabilidade e a correlação entre estas análises.

MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Este experimento constituiu um estudo duplo-cego, fatorial 2x4, com delineamento em blocos completos casualizados. Os fatores em estudo foram *aplicação de flúor* em 2 níveis [presente: gel de fluoreto estanhoso (SnF_2) a 0,4% e ausente (controle)] e *potência do laser de CO_2* em 4 níveis [ausência de irradiação (controle), 0,5 W, 1 W ou 1,5 W]. A amostra do experimento foi composta por 104 fragmentos de esmalte humano de dente decíduo, aleatoriamente divididos em 8 grupos ($n = 13$) seguindo a combinação dos níveis dos fatores em estudo. As variáveis de resposta foram o desgaste (em μm) e a permeabilidade (em %). A Figura 1 representa o desenho esquemático da metodologia empregada.

Aspectos éticos

Foram utilizados 60 molares decíduos íntegros, previamente obtidos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto / USP (Processo nº 2007.1.1133.58.4, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP).

Seleção e preparo dos espécimes

Os dentes foram submetidos à limpeza com curetas periodontais, seguida de profilaxia com pedra-pomes e água e escova de Robinson e taça de borracha em baixa rotação (Figura 2A) e armazenados em solução de timol a 0,1% a 4°C. A ausência de trincas, hipoplasia e hipomineralização foi comprovada através da inspeção em lupa estereoscópica com aumento de 20x (Leica, S6 D Stereozoom, Leica Microsystems AG, Suíça). Posteriormente, as raízes, quando presentes, foram removidas (Figura 2B), as coroas foram seccionadas no sentido méso-distal (Figura 2C) e montadas em placas de Plexiglass para confecção de fragmentos de esmalte medindo 3x3 mm em cortadeira de precisão, refrigerada à água (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) (Figura 2D-E), totalizando 120 espécimes.

Os fragmentos foram montados em blocos, planificados em politriz (Rotoforce 4, Struers A/S, Ballerup, DK) com lixas de granulação 1.200, 2.400 e 4.000 (Struers A/S, Ballerup, DK) (Figura 2F-H) e polidos com suspensão de alumina a 1 μ m (DP suspension, Struers A/S, Ballerup, DK). Assim, 120 fragmentos de esmalte decíduo com superfície planificada e polida foram obtidos (3x3x2mm).

A seguir, os espécimes foram fixados com cera em blocos de resina acrílica e duas fitas adesivas foram colocadas nas bordas da superfície dos fragmentos deixando uma área exposta de 3x1mm² (Figura 2I).

Preparo das soluções

Uma solução de HCl a 0,01M com pH 2,0 foi manipulada de acordo com a Farmacopeia Americana, simulando o suco gástrico (Figura 3A-B). Para o preparo da saliva artificial, os reagentes (213mg de CaCl₂·H₂O, 738mg de KH₂PO₄, 1.114mg de KCl, 381mg de NaCl, 12g de tampão Tris, 2,2g de mucina gástrica, q.s.p. 1 litro) foram pesados em balança analítica (AB204-S/FACT, Mettler Toledo, Columbus, OH, EUA) e submetidos à agitação (Figura 3C-E). O pH da solução foi ajustado para 7,0 (Figura 3F).

Figura 1. A. Secção dos dentes. B. Obtenção dos fragmentos. C. Planificação e polimento da superfície do esmalte. D. Fixação em blocos de resina acrílica e delimitação da área. E. Formação da lesão de erosão. F. Análise do desgaste inicial. G. Aplicação de fluoreto estanhoso a 0,4%. H. Irradiação com laser de CO₂. I. Desafios erosivos sucessivos. J. Análise do desgaste final. K. Método de coloração histoquímica. L. Secção dos fragmentos. M. Obtenção das imagens digitais e leituras de permeabilidade.

Figura 2 – Preparo dos dentes

- A.** Profilaxia dental com pasta de pedra pomes e água.
- B.** Secção das raízes.
- C.** Secção das coroas no sentido méso-distal.
- D.** Máquina de corte refrigerada à água (Isomet 1000; Buehler).
- E.** Confecção dos fragmentos de esmalte 3x3mm.
- F.** Politriz (Rotoforce 4, Struers A/S).
- G.** Montagem dos espécimes para planificação e polimento.
- H.** Espécimes colocados na politriz para planificação e polimento.
- I.** Montagem dos espécimes em blocos de resina acrílica e delimitação da área com duas fitas adesivas.

Figura 3 – Preparo das soluções

- A.** Preparo da solução de ácido clorídrico a 0,01M.
- B.** Análise do pH da solução de ácido clorídrico.
- C.** Pesagem dos reagentes em balança analítica (AB204-S/FACT, Mettler Toledo).
- D.** Adição dos reagentes para o preparo a saliva artificial.
- E.** Agitação da saliva artificial.
- F.** Ajuste do pH da saliva artificial para 7,0.

Formação de lesões de erosão

Para a formação de lesões de erosão, um desafio erosivo inicial foi realizado com 4 ciclos de imersão em 10 ml de HCl a 0,01M (pH 2) por 2 minutos cada (Figura 4A), com intervalo de 2 horas (8:00, 10:00, 12:00, 14:00). Após os processos de desmineralização e remineralização, os espécimes foram lavados com água deionizada por 10 segundos. Entre os episódios erosivos, os espécimes permaneceram em saliva artificial por 120 minutos, porém, após o último desafio, ficaram em saliva artificial durante toda a noite, sob agitação por 100 rpm e a temperatura ambiente (Figura 4B).

Análise do desgaste inicial

Após o 1º dia de desafio erosivo, as fitas foram removidas e, uma área de 2x1mm² (cobrindo ambas áreas exposta e coberta pela fita) foi analisada por perfilometria óptica (Proscan 2000, Scantron, Venture Way, Taunton, UK) (Figura 4C-D). O desgaste inicial foi calculado e usado para selecionar 104 espécimes. Novas fitas foram colocadas na superfície do espécime na mesma posição das anteriores.

Aplicação de fluoreto estanhoso a 0,4% e irradiação com laser de CO₂

Os espécimes foram divididos em 8 grupos usando aleatorização balanceada de acordo com a perda de superfície inicial e com a combinação dos níveis dos fatores em estudo: aplicação de flúor (presente-gel de fluoreto estanhoso a 0,4% e ausente-controle) e potência do laser de CO₂ (sem irradiação-controle, 0,5 W, 1 W, 1,5 W). Assim, metade dos espécimes foram submetidos a uma única aplicação de um gel de SnF₂ a 0,4% por 1 minuto com o auxílio de um microbrush (Figura 4E-F). Após esse tempo, o gel foi removido da superfície com papel absorvente. A outra metade dos fragmentos de esmalte decíduo não receberam a aplicação do gel de flúor. Posteriormente, os espécimes foram submetidos à irradiação com laser de CO₂, de acordo com as potências empregadas: 0,5 W; 1 W; 1,5 W; ausência de irradiação (controle). A potência média de saída foi aferida por meio de um instrumento de medição de potência elétrica (Field Max II-Top laser power/energy meter, Coherent Radiation, Palo Alto, Califórnia, EUA) e as densidades de energia foram calculadas, conforme Quadro I. A irradiação foi realizada com laser de CO₂ com

$\lambda = 10,6 \mu\text{m}$ (PC 015–D CO₂ laser system, Shanghai Jue Hua Laser Tech. Development Co., Ltd., Shanghai, China) no modo ultrapulso, com duração de cada pulso de 100 μs , intervalos entre os pulsos de 0,001 segundos, desfocado a uma distância de 4 mm do esmalte (Tepper *et al.*, 2004) e com diâmetro do feixe de 0,4mm (Figura 4G-H). Um dispositivo confeccionado com fio ortodôntico foi fixado junto à ponta do laser com o objetivo de padronizar a distância estabelecida. A irradiação foi realizada de maneira homogênea por meio da varredura da área de esmalte exposto. Considerando o diâmetro do feixe e a área a ser irradiada, o tempo total de irradiação foi de aproximadamente 10 s por espécime.

Potência de entrada	Potência média de saída	Energia por pulso	Densidade de energia
0,5W	0,44W	0,05mJ	0,04 J/cm ²
1,0W	1,14W	0,10mJ	0,08 J/cm ²
1,5W	1,61W	0,15mJ	0,12 J/cm ²

Quadro I. Valores da potência de entrada, potência média de saída, energia por pulso e da densidade de energia utilizados nos grupos irradiados com laser de CO₂.

Desafios erosivos sucessivos

Após a realização dos tratamentos superficiais, novos desafios erosivos foram realizados utilizando o mesmo protocolo previamente descrito. Foram novamente realizados 4 ciclos de desafios erosivos por dia, durante 5 dias, com imersão em ácido clorídrico a 0,01M (pH 2) por 2 minutos, com intervalo de 2 horas (8:00, 10:00, 12:00, 14:00).

Análise do desgaste final

Após os desafios erosivos finais, as fitas foram novamente removidas e os espécimes foram analisados por perfilometria óptica (Proscan 2000, Scantron, Venture Way, Taunton, UK). O desgaste final foi calculado utilizando um software (Proscan 2000, Scantron). A diferença entre o desgaste final e inicial foi calculada para a realização da análise estatística.

Figura 4 – Desafios ácidos, tratamentos e análise da perfilometa por desgaste

- A.** Processo de desmineralização, com imersão em solução de ácido clorídrico a 0,01M.
- B.** Processo de remineralização em mesa agitadora.
- C.** Perfilômetro óptico (Proscan 2000, Scantron).
- D.** Análise das imagens em software Proscan 2000 (Proscan 2000, Scantron).
- E.** Gel de fluoreto estanhoso a 0,4% (Omni Gel, 3M ESPE).
- F.** Aplicação tópica de flúor com microbrush.
- G.** Laser de CO₂ (PC 015-D CO₂ laser system, Shanghai Jue Hua Laser Tech. Development Co., Ltd.).
- H.** Irradiação com laser de CO₂ a 4mm da superfície do esmalte.

Método de coloração histoquímica

Os espécimes foram impermeabilizados com cera, exceto na face vestibular, e individualmente imersos em 1 ml de solução aquosa de sulfato de cobre a 10%, por 10 dias. A seguir, os fragmentos foram secos em papel absorvente e imersos em 1 ml de solução alcoólica de ácido rubeânico a 0,5%, por 10 dias. O referido ácido reagiu com os íons cobre, formando rubeanato de cobre, de coloração verde escuro. Os espécimes foram lavados com água deionizada por 15 segundos, secos e individualmente mantidos em vapor de amônia por 7 dias. Este protocolo de coloração histoquímica foi descrito por Carrasco *et al.* (2003) e validado para lesões de erosão por Turssi *et al.* (2005).

Avaliação da permeabilidade

Os espécimes foram embutidos em resina acrílica (Jet. Ind. Clássico, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 5A-D) e seccionados transversalmente em cortadeira de precisão refrigerada à água (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA)(Figura 5E), sendo obtidas três secções com espessura média de 200 µm.

A análise da permeabilidade foi realizada em microscópio óptico (Axiolab Plus, Carl Zeiss, Jena, Alemanha), utilizando o software de digitalização de imagem Axion Vision 3.1 (Kontron Elektronik, Herlev, Dinamarca). Para cada secção obtida, foram realizadas cinco mensurações da extensão da penetração dos íons cobre. Para o cálculo da permeabilidade relativa, a espessura do esmalte também foi medida (Figura 5F-H). Desta forma, a permeabilidade relativa foi calculada segundo a fórmula: permeabilidade = [(extensão da penetração) / (espessura do esmalte) x 100].

Análise estatística

Após ter sido verificado se os dados de desgaste e permeabilidade atendiam às pressuposições de normalidade e homocedasticidade do modelo da Análise de Variância (ANOVA), aplicaram-se ANOVAs a dois critérios. Para desmembramento das interações ou comparações pareadas, utilizou-se o teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%. As análises foram realizadas através do software Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA). Para a análise da correlação entre as variáveis de resposta, aplicou-se o teste de Correlação de Pearson ($\alpha = 0,05$).

Figura 5 - Análise da permeabilidade

- A.** Adaptação dos espécimes após coloração histoquímica em moldes pré-confeccionados.
- B.** Resina acrílica (Jet. Ind. Clássico, São Paulo).
- C.** Inclusão dos espécimes em blocos de resina acrílica.
- D.** Confeção de blocos de resina acrílica.
- E.** Secção dos blocos de resina.
- F.** Microscópio óptico para a análise da permeabilidade (Axiolab Plus, Carl Zeiss).
- G.** Digitalização dos espécime para análise.
- H.** Realização de cinco mensurações da penetração dos íons cobre em relação à espessura do esmalte em software de digitalização de imagem Axion Vision 3.1 (Kontron Elektronik, Herlev).

RESULTADOS

4 RESULTADOS

Análise do desgaste

A ANOVA a dois critérios revelou que houve efeito significativo da interação entre a aplicação de flúor e potência do laser de CO₂ ($p = 0,046$).

O teste de Tukey mostrou que, independente do gel fluoretado ter sido ou não aplicado previamente à irradiação com laser, após os desafios erosivos subseqüentes não houve diferença no desgaste do esmalte não-irradiado e irradiado com as potências de 0,5 W ou 1,5 W. Quando se utilizou 1 W, o desgaste do esmalte diante de novos desafios erosivos foi significativamente menor quando se aplicou previamente o gel fluoretado, como revela a Tabela 1.

Tabela 1. Médias e desvios padrão do desgaste entre o primeiro e o sexto dia de desafios erosivos (μm).

Gel de SnF ₂ a 0,4%	Laser de CO ₂			
	Sem irradiação	0,5 W	1,0 W	1,5 W
Ausente	-5,37 (1,43) Aa	-4,58 (1,06) Aa	-5,76 (1,67) Ba	-4,54 (1,74) Aa
Presente	-4,00 (1,36) Aa	-3,31 (1,86) Aa	-3,03 (1,07) Aa	-4,02 (1,08) Aa

Letras maiúsculas distintas representam diferenças significativas dentro de cada coluna.

Letras minúsculas distintas representam diferenças significativas dentro de cada linha.

Análise da permeabilidade

A ANOVA a dois critérios demonstrou que não houve efeito significativo da interação entre os fatores aplicação de flúor e potência do laser de CO₂ ($p = 0,591$). Para o fator aplicação de flúor, não se observou efeito significativo ($p = 0,185$), ou seja, independentemente do esmalte ter sido ou não submetido à irradiação com laser de CO₂, não houve diferença nos valores de permeabilidade quando se aplicou o gel fluoretado. Constatou-se efeito significativo para o fator potência do laser de CO₂ ($p = 0,037$).

O teste de Tukey mostrou que houve diferença na permeabilidade do esmalte irradiado com as potências do laser de CO₂ de 0,5 W e 1,5 W, sendo

que a potência de 1,5 W proporcionou aumento da permeabilidade do esmalte quando comparado a 0,5 W ($p = 0,028$), como revela a Tabela 2.

Tabela 2. Médias e desvios padrão da porcentagem da permeabilidade do esmalte após desafios erosivos (%).

Gel de SnF ₂ a 0,4%	Laser de CO ₂			
	Sem irradiação	0,5 W	1,0 W	1,5 W
Ausente	9,47 (7,53)	8,19 (5,73)	16,77 (10,61)	17,76 (7,26)
Presente	17,46 (32,35)	11,16 (20,14)	16,23 (31,32)	19,42 (35,03)

O Gráfico 1 mostra a permeabilidade do esmalte erodido de dentes decíduos após diferentes tratamentos.

Gráfico 1. Permeabilidade do esmalte erodido de dentes decíduos após diferentes tratamentos.

Correlação entre desgaste e permeabilidade

O teste de correlação de Pearson revelou que não houve correlação significativa entre o desgaste e a permeabilidade do esmalte ($p = 0,699$).

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

A erosão dental em crianças tem sido discutida na literatura, principalmente quando associada ao refluxo gastroesofágico (Linnett *et al.*, 2002; Dahshan *et al.*, 2002; Ersin *et al.*, 2006; Jaeggi e Lussi, 2006; Tolia e Vandenplas, 2009). O emprego de algumas terapias como o flúor (Willumsen *et al.*, 2004; Hove *et al.*, 2006; Hove *et al.*, 2007) e o laser de CO₂ (Steiner-Oliveira *et al.*, 2010; Wiegand *et al.*, 2010) tem sido propostas no controle destas lesões. A utilização de parâmetros diferentes do laser de CO₂, como a potência, poderia interferir na alteração morfológica da superfície irradiada e contribuir para o aumento da resistência ácida. A análise do desgaste, que determina a quantidade de perda de superfície provocada pelo desafio ácido, e a análise da permeabilidade, que verifica o grau de penetração de íons no substrato exposto a condições erosivas, constitui-se métodos que podem esclarecer o efeito da fluoroterapia e da tecnologia laser no controle das lesões de erosão induzidas por ácido clorídrico no esmalte de dentes decíduos.

Análise do desgaste

Dentre as análises usadas para quantificar a perda de minerais decorrente da erosão, destaca-se o desgaste, por ser de fácil execução e por poder avaliar tanto as alterações iniciais na superfície, bem como a perda de tecido em estágio avançado. Esta análise é realizada por meio da perfilometria, sendo apropriada para a avaliação do esmalte desde que alterações no conteúdo mineral da subsuperfície sejam relativamente pequenas (Ganss *et al.*, 2009). O emprego da perfilometria foi validado para a erosão (Ganss *et al.*, 2005), sendo considerada como "padrão ouro" (Hall *et al.*, 1997).

O princípio da perfilometria para o monitoramento da progressão da erosão baseia-se na medição do degrau entre uma área de referência não alterada e uma área experimental que é exposta aos desafios erosivos. Um aumento da altura destes degraus em medidas seqüenciais indica a progressão do desgaste (Ganss *et al.*, 2005). Neste trabalho, a análise do desgaste mostrou ser um método adequado para quantificar a perda de superfície decorrente da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos.

Os resultados deste estudo evidenciaram efeito sinérgico entre a aplicação tópica de flúor e a potência do laser de CO₂ na redução da perda de superfície em esmalte de dentes decíduos. Este efeito benéfico da associação é decorrente das alterações promovidas pelo laser de CO₂ na superfície, bem como do aumento na captação de flúor no esmalte irradiado (Chin-Ying *et al.*, 2004; Tepper *et al.*, 2004). Dois mecanismos podem estar envolvidos no aumento da absorção de flúor no esmalte pela ação do laser. Uma justificativa apresentada é que o tratamento com flúor e laser de CO₂ produz vários precipitados esféricos que morfologicamente se assemelham a depósitos de CaF₂ na superfície dentária, que serviriam como reservatório de flúor (Chin-Ying *et al.*, 2004; Tepper *et al.*, 2004), bem como em pequenas fendas ou crateras que permitiriam maior difusão dos íons flúor no interior do esmalte (ten Cate, 1999). Outro mecanismo demonstra o papel do laser de CO₂ em aumentar a captação de flúor na estrutura dentária cristalina na forma de fluorapatita quando o flúor estiver presente (Meurman *et al.*, 1997; Chin-Ying *et al.*, 2004). Assim, este tratamento combinado permite a captação de flúor fortemente e fracamente aderido à superfície (Chin-Ying *et al.*, 2004). Estas teorias procuram explicar o sinergismo observado neste estudo no que se refere ao controle do desgaste da superfície do esmalte de dentes decíduos.

Independente da aplicação tópica de flúor ter sido realizada previamente, não houve diferença na perda de superfície do esmalte entre os grupos não-irradiado e irradiados com 0,5 W ou 1,5 W. A potência de 0,5 W, cuja densidade de energia empregada foi de 0,04 J/cm², parece não ter sido capaz de promover alterações morfológicas, devido à baixa energia absorvida na superfície do esmalte. No estudo de Tagliaferro *et al.* (2007), empregando potência pico de 0,5 W (densidade de energia de 5 J/cm² por pulso), áreas de derretimento, fusão ou outras mudanças físicas não foram observadas em dentes decíduos quando foi utilizado laser de CO₂.

Por outro lado, nos espécimes irradiados com a potência de 1,5 W, algumas modificações na superfície foram observadas visivelmente, provavelmente devido ao processo de ablação e/ou carbonização, embora uma análise microscópica desses espécimes não tenha sido realizada. Krejci *et al.* (1992) evidenciou que o limiar de ablação do laser de CO₂ no modo superpulso ocorre quando utiliza-se uma potência de saída de aproximadamente 1 W e

com duração de pulsos curtos de 0,2 a 0,3 segundos. Na análise do esmalte de dentes decíduos, utilizando densidade de energia de até 5 J/cm² não foi possível promover ablação (da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009). A irradiação com laser de CO₂ (1W, densidade de energia de 83,33 J/cm²) pode provocar trincas e fendas na superfície, que reduzem a integridade estrutural do esmalte e, possivelmente, constituem uma passagem para a penetração do ácido (Tsai *et al.*, 2002), comprometendo o efeito preventivo da erosão dental. Estes fatores podem explicar os resultados obtidos com essa potência.

O laser de CO₂, com comprimento de onda de 10,6µm, é o mais eficiente na inibição da progressão da desmineralização do esmalte, uma vez que essa emissão de radiação infravermelha é muito próxima das bandas de absorção do carbonato e fosfato da apatita, sendo muito bem absorvida por este substrato (Featherstone e Nelson, 1987; Nelson *et al.*, 1987; Featherstone *et al.*, 1998). Consequentemente, o efeito dessa irradiação no esmalte provoca uma redução do teor destes compostos (Steiner-Oliveira *et al.*, 2006) e uma redução da reatividade do esmalte a uma temperatura suficientemente alta (Featherstone e Nelson, 1987; Featherstone *et al.*, 1997). No trabalho de Tsai *et al.* (2002), este laser mostrou-se mais eficiente em aumentar a resistência ácida do esmalte que o laser de Nd:YAG, quando uma mesma densidade de energia foi aplicada, sendo seu efeito protetor limitado à superfície do esmalte.

Contudo, neste estudo, um efeito protetor significativo na erosão dental não foi evidenciado com a irradiação de laser de CO₂ somente, o que está de acordo com estudos prévios quando uma simulação de desafios de erosão extrínseca foi realizada (Steiner-Oliveira *et al.*, 2010; Wiegand *et al.*, 2010).

O mecanismo de ação exato do laser de CO₂ na inibição da desmineralização do esmalte não foi totalmente esclarecido. Algumas teorias apóiam que alterações das características físicas como derretimento e fusão do cristal de hidroxiapatita (Stern *et al.*, 1972; Nelson *et al.*, 1986; Nelson *et al.*, 1987; Klein *et al.*, 2005) ou de composição do esmalte estariam envolvidas (Steiner-Oliveira *et al.*, 2006), bem como alteração da matriz orgânica (Hsu *et al.*, 2000; Hsu *et al.*, 2001). Entretanto, Kantorowitz *et al.* (1998) e Hsu *et al.* (2000) mostraram que essas mudanças físicas não são necessárias para aumentar a resistência ácida a desmineralização.

Tem sido proposto que densidades de energia baixas e duração de pulsos curtos devem ser utilizados a fim de provocar danos térmicos menores à superfície e inflamação irreversível da polpa, o que pode comprometer sua aplicação *in vivo* (Fried *et al.*, 1996). Neste sentido, Esteves-Oliveira *et al.*, em 2009, estabeleceram um conjunto de parâmetros para inibir a cárie dentária. Neste estudo, buscou-se verificar a influência da potência do laser de CO₂ para controlar a perda de superfície do esmalte frente a desafios erosivos de origem intrínseca. No entanto, faz-se necessário verificar a influência de outros parâmetros, como distância de atuação, duração do pulso, energia por pulso, a fim de obter parâmetros adequados para o controle destas lesões.

Em nosso estudo, um efeito sinérgico foi evidenciado quando o gel de SnF₂ foi associado ao laser de CO₂ na potência de 1W. A hipótese provável deste resultado é que 1W poderia constituir um parâmetro ideal para promover alterações morfológicas e/ou químicas do esmalte em dentes permanentes (Tsai *et al.*, 2002) e em decíduos (Tagliaferro *et al.*, 2007; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2009). Estas alterações propiciam uma modificação da superfície, como por exemplo redução do conteúdo de carbonato, e, conseqüentemente, um aumento na resistência ácida do esmalte, sem promover ablação (da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009). Além disso, a superfície de esmalte de dentes decíduos irradiada com laser de CO₂ a 1W apresenta áreas irregulares com rugosidades que permitiriam uma maior captação do flúor na superfície e promoveriam uma maior proteção ao esmalte frente a desafios erosivos (Souza *et al.*, 2009).

Em dentes decíduos, já foi evidenciado que a irradiação com laser de CO₂ (1 W) somente, bem como em combinação com flúor fosfato acidulado (FFA), inibiu significativamente a progressão da desmineralização no esmalte. Entretanto, esta associação não propiciou um efeito adicional contra a progressão da lesão de cárie dentária (Tagliaferro *et al.*, 2007).

Em virtude dos resultados promissores na erosão, mesmo sob condições erosivas severas intrínsecas (Hove *et al.*, 2006, 2007; Willumsen *et al.*, 2004) ou extrínsecas (Schlueter *et al.*, 2009a; Schlueter *et al.*, 2009b; Schlueter *et al.*, 2010a; Schlueter *et al.*, 2010b), o SnF₂ foi escolhido para a realização deste estudo. Entretanto, diante de desafios erosivos severos, como o protocolo usado neste trabalho, o gel de SnF₂ a 0,4% não reduziu o desgaste

do esmalte. Murakami *et al.* (2009) obteve proteção contra a erosão em dentes decíduos com a aplicação de FFA a 1,23%, entretanto não foi estatisticamente significativa. Além disso, Magalhães *et al.* (2009), em estudo *in situ*, mostraram que TiF_4 a 4% reduziu o “amolecimento” do esmalte de dentes permanentes, mas esta redução não foi observada em dentes decíduos.

O papel do flúor na proteção do esmalte pode apresentar eficácia limitada diante de desafios erosivos (Ganss *et al.*, 2001; Larsen, 2001; Larsen e Richards, 2002). No caso da erosão dental, nenhuma lesão de subsuperfície está disponível para a remineralização e, portanto, a precipitação de camadas de CaF_2 assume o único modo de ação. Para acumular uma maior quantidade de material semelhante a CaF_2 , principalmente nos casos de condições extremamente erosivas, a aplicação tópica de fluoretos mais ácidos e mais concentrados, bem como um tempo de aplicação prolongado (Ganss *et al.*, 2001; Ganss *et al.*, 2004), poderia oferecer uma maior proteção contra a erosão (Ganss *et al.*, 2001).

Neste sentido, vários experimentos utilizando doses elevadas de flúor demonstraram resultados promissores em aumentar a resistência do esmalte e diminuir a taxa de progressão da erosão dental (Ganss *et al.*, 2001; Mok *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2002; Hughes *et al.*, 2004), uma vez que esta camada de CaF_2 oferece mais resistência a dissolução durante o desafio erosivo. Assim, o efeito protetor do SnF_2 decorreria apenas quando aplicado em altas concentrações ou com maior frequência de aplicação.

O protocolo dos desafios erosivos (4x/dia, concentração da solução do ácido clorídrico) utilizado neste trabalho, primeiramente proposto por Hove *et al.* (2007) em dentes permanentes, foi adaptado para dentes decíduos (quantidade de ácido aplicado por espécime). A simulação das condições erosivas foi realizada por meio da imersão em ácido clorídrico a 0,01M no pH 2,0, que simularia o suco gástrico. Os desafios erosivos foram efetuados 4x/dia para mimetizar os episódios de refluxo em crianças.

Como previamente descrito na literatura, dentes decíduos apresentam uma menor espessura de esmalte, menor conteúdo mineral e maior quantidade de primas do esmalte (de Menezes Oliveira *et al.*, 2010), propiciando uma maior suscetibilidade a erosão dental em comparação aos dentes permanentes (Amaechi *et al.*, 1999; Hunter *et al.*, 2000b; Johansson *et al.*, 2001; Wang *et al.*,

2006; Correr *et al.*, 2007; Murakami *et al.*, 2009). A matriz do esmalte é mais porosa (Fejerskov *et al.*, 1987; Lussi *et al.*, 2000; Lippert *et al.*, 2004), menos mineralizada (Naujoks *et al.*, 1967; Thylstrup *et al.*, 1976; Wilson e Beynon, 1989; Meurman e Ten Cate, 1996; Hunter *et al.*, 2000b; Lippert *et al.*, 2004; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010), com maior presença de dióxido de carbono e carbonato (Hunter *et al.*, 2000b; Correr *et al.*, 2007) e menor quantidade de fósforo (Hunter *et al.*, 2000b; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010) e fosfato de cálcio (Amaechi *et al.*, 1999; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010) em sua composição. O contorno e o arranjo dos prismas de esmalte são semelhantes nos dentes decíduos e permanentes, mas o esmalte do dente decíduo tem menos microcristais organizados (Lippert *et al.*, 2004) e maior coeficiente de difusão (Hunter *et al.*, 2000b). Além disso, dentes decíduos apresentam uma camada de esmalte aprismática na superfície (Meurman e Ten Cate, 1996). Diante desses fatores, a progressão da erosão dental nestes dentes é mais rápida que nos dentes permanentes (Amaechi *et al.*, 1999; Johansson *et al.*, 2001). Contudo, alguns trabalhos não encontraram diferenças entre esses dois tipos de substratos frente a desafios erosivos (Hunter *et al.*, 2000a; Lussi *et al.*, 2000; Lippert *et al.*, 2004; Attin *et al.*, 2007).

Pelo exposto, a maior suscetibilidade do dente decíduo frente a desafios ácidos, devido à resistência baixa à desmineralização, e a realização de desafios erosivos extremamente severos poderiam ter oferecido maior dificuldade em controlar as lesões de erosão nestes dentes e ter mascarado o efeito protetor do flúor.

Poucos estudos avaliaram a irradiação do laser de CO₂ na prevenção da erosão (Steiner-Oliveira *et al.*, 2010; Wiegand *et al.*, 2010), mas nenhum avaliou este efeito em dentes decíduos. Além disso, a literatura é escassa em pesquisas avaliando a erosão dental em esmalte de dentes decíduos. Em virtude da ausência de trabalhos na literatura específica com relação a associação de fluoretos e irradiação com laser de CO₂ em dentes decíduos, a comparação dos resultados deste trabalho com estudos prévios torna-se dificultada.

Considerando os resultados obtidos, verifica-se que mais estudos são necessários para elucidar o efeito sinérgico entre compostos fluoretados e laser de CO₂, bem como para estabelecer outros parâmetros antes que esta terapia

seja utilizada para controle de lesões de erosão de origem intrínseca no esmalte de dentes decíduos em ambiente clínico.

Análise da permeabilidade

A metodologia histoquímica empregada na análise da permeabilidade foi originalmente descrita para o tecido dentinário (Pécora *et al.*, 1991), porém revelou-se adequada para avaliação da permeabilidade em esmalte após a realização de alguns ajustes (Schiavoni *et al.*, 2006; Turssi *et al.*, 2006). Para estudos de erosão, este método também mostrou-se eficiente para detectar a porcentagem de penetração de íons cobre no esmalte erodido (Turssi *et al.*, 2005; Jordão *et al.*, 2008).

Neste estudo *in vitro*, por meio da análise da permeabilidade, verificou-se que um efeito significativo da interação entre os fatores aplicação de flúor e potência do laser de CO₂ não foi encontrado. Uma associação benéfica entre irradiação com laser de CO₂ (modo contínuo, 0,5W, 5s, 6 aplicações) e aplicação de SnF₂ já foi preconizada para sensibilidade dentinária. O íon de estanho estava presente nas amostras irradiadas, porém não foi encontrado no grupo controle (somente com aplicação de flúor), sugerindo que a combinação flúor e laser resulta em permanência do flúor na superfície da dentina (Moritz *et al.*, 1996, 1998).

A aplicação de flúor não mostrou redução da permeabilidade do esmalte de dentes decíduos submetidos a desafios erosivos de origem intrínseca, provavelmente devido à concentração do gel fluoretado e/ou ao número de aplicações, como anteriormente discutido na análise dos dados obtidos pela perfilometria.

Para controle da cárie dentária, a aplicação do SnF₂ já foi demonstrada. Shannon, em 1982, propôs que o tratamento diário com gel de SnF₂ a 0,4% é muito efetivo na prevenção da desmineralização em paciente em tratamento ortodôntico; na prevenção de cáries rampantes, em pacientes com xerostomia, irradiados na região de cabeça e pescoço, e na prevenção de cárie em dentina exposta à cavidade bucal. Biesbrock *et al.*, em 1998, ao avaliarem a capacidade de reversão de lesões de cárie incipientes em crianças através da aplicação de fluoretos, encontraram que SnF₂ foi mais eficaz no

tratamento de lesão de cárie incipiente que o controle. Hicks *et al.*, em 2004, verificaram uma redução desta doença em dentes recém irrompidos com a aplicação tópica do flúor, sendo esta maior com o uso do SnF_2 (61-84%).

Embora o SnF_2 tenha sido preconizado há algum tempo para a cárie dentária, este fluoreto tem sido alvo de pesquisas para o controle das lesões de erosão (Schlueter *et al.*, 2009a; Schlueter *et al.*, 2009b; Schlueter *et al.*, 2010a; Schlueter *et al.*, 2010b). Isto se deve a formação de uma camada ácido-resistente que protege a superfície de esmalte contra a desmineralização devido a ação do íon estanho (Hove *et al.*, 2006).

Porém, neste estudo, principalmente nos espécimes tratados com flúor, houve uma grande variabilidade da porcentagem de penetração dos íons cobre no interior do esmalte, provavelmente devido à instabilidade do fluoreto estanhoso ou à análise empregada. Além disso, como também já discutido previamente, o esmalte de dente decíduo pode ter promovido maior penetração do ácido e, conseqüentemente, dos íons cobre por apresentar uma matriz mais porosa (Fejerskov *et al.*, 1987; Lussi *et al.*, 2000; Lippert *et al.*, 2004) e menos mineralizada (Naujoks *et al.*, 1967; Thylstrup *et al.*, 1976; Wilson e Beynon, 1989; Meurman e Ten Cate, 1996; Hunter *et al.*, 2000b; Lippert *et al.*, 2004; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010).

Nesta investigação, a penetração de íons cobre no interior do esmalte indicou que a permeabilidade do esmalte foi diferente quando a irradiação com laser de CO_2 empregada foi de 1,5 W comparada a 0,5 W. Na potência de 1,5 W, o laser de CO_2 apresentou maior percentual de permeabilidade do esmalte, independente da aplicação do gel fluoretado. Este resultado pode ser justificado uma vez que o tratamento com laser de CO_2 com potências maiores como a de 1,5 W, pode permitir a formação de micro-espacos no tecido duro dos dentes (Fowler e Kuroda, 1986; Tsai *et al.*, 2002), facilitando a penetração do ácido.

Um estudo descreveu o aumento da permeabilidade do esmalte bovino após a irradiação com laser de CO_2 , por meio de mensurações diretas do transporte de componentes iônicos e não iônicos através dos espécimes. Este aumento de permeabilidade permitiu um ganho maior na incorporação de flúor pelo esmalte fusionado, o que torna o esmalte menos solúvel na presença de ácidos (Borggreven *et al.*, 1980).

Várias teorias têm sido propostas para explicar os mecanismos pelos quais o esmalte dental irradiado com laser de CO₂ é mais resistente ao desafio ácido. Como o laser de CO₂ produz radiação na região do espectro infravermelho muito próximo às bandas de absorção da apatita (Featherstone e Nelson, 1987; Nelson *et al.*, 1987; Featherstone *et al.*, 1998), a maior parte da luz é absorvida pelo esmalte e convertida em calor, aquecendo a hidroxiapatita na superfície e na subsuperfície próxima a uma temperatura superior a 400°C. O efeito térmico pode resultar em redução do conteúdo de carbonato (Kuroda e Fowler, 1984; Nelson *et al.*, 1987; Zuerlein *et al.*, 1999; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006), aumento do tamanho dos cristais de hidroxiapatita (Kantola, 1972; Ferreira *et al.*, 1989; McCormack *et al.*, 1995), derretimento (Kuroda e Fowler, 1984; Nelson *et al.*, 1987; Ferreira *et al.*, 1989; Meurman *et al.*, 1992; McCormack *et al.*, 1995; Tsai *et al.*, 2002), fusão e recristalização (Kantola, 1972) do esmalte irradiado, resultando na diminuição da solubilidade do mineral frente ao desafio ácido.

Assim, a utilização de potência ideal do laser de CO₂ poderia ser um método para controlar a permeabilidade do esmalte de dentes decíduos submetidos a desafios erosivos com ácido clorídrico. No entanto, é necessário que mais estudos *in vitro* e *in situ* sejam realizados avaliando os distintos parâmetros, a fim de comprovar o real benefício do laser de CO₂.

Correlação entre desgaste e permeabilidade

Neste trabalho, não houve correlação significativa entre as variáveis de resposta, mostrando que a análise do desgaste não apresenta relação com a análise da permeabilidade em esmalte de dentes decíduos submetidos a desafios erosivos por ácido clorídrico. Desta forma, o aumento do desgaste não implica em uma relação direta ou inversa da penetração dos íons cobre no esmalte erodido de dentes decíduos.

Na literatura, não há trabalhos avaliando a correlação entre estas variáveis de resposta com relação a erosão dental, dificultando uma análise comparativa deste resultado. A maioria dos estudos utilizam a análise do desgaste para quantificar a perda de superfície decorrente de desafios erosivos.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados deste estudo e considerando as condições experimentais empregadas, pode-se concluir que:

- A análise do desgaste evidenciou que o laser de CO₂ utilizando a potência de 1W associado ao fluoreto estanhoso a 0,4% pode ser um método efetivo no controle da erosão induzida por ácido clorídrico em esmalte de dentes decíduos.

- A análise da permeabilidade não evidenciou efeito sinérgico entre a aplicação do fluoreto estanhoso a 0,4% e as potências do laser de CO₂. A potência do laser de CO₂ de 0,5 W proporcionou menor permeabilidade no esmalte dental erodido quando comparada a de 1,5 W.

- A análise do desgaste não apresentou correlação com a análise da permeabilidade em esmalte de dentes decíduos submetidos a desafios erosivos por ácido clorídrico.

REFERÊNCIAS

1. Aine L, Baer M, Maki M. Dental erosions caused by gastroesophageal reflux disease in children. *ASDC J Dent Child* 1993; 60(3):210-4.
2. Amaechi B, Higham S, Edgar W. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil* 1999;26:624-30.
3. Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A. The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: erosion–abrasion experiments. *J Dent* 2007;35:773-7.
4. Babcock FD, King JC, Jordan TH. The reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite. *J Dent Res* 1978;57:933-8.
5. Barbakow F, Lutz F, Sener B. *In vitro* dissolution of human enamel after application of a mixture of stannous fluoride and amine fluoride 297: a pilot study. *ASDC J Dent Child* 1985; 52:444-8.
6. Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci* 2006;20:119-39.
7. Bartlett DW, Evans DF, Anggiansah A, Smith BG. A study of the association between gastro-oesophageal reflux and palatal dental erosion. *Br Dent J* 1996; 181(4):125-31.
8. Benages A, Muñoz JV, Sanchiz V, Mora F, Mínguez M. Dental erosion as extraoesophageal manifestation of gastro-oesophageal reflux. *Gut* 2006; 55(7):1050-1.
9. Biesbrock AR, Faller RV, Bartizek RD, Court LK, McClanahan SF. Reversal of incipient and radiographic caries through the use of sodium and stannous fluoride dentifrices in a clinical trial. *J Clin Dent* 1998;9(1):5-10.
10. Borggreven JM, van Dijk JW, Driessens FC. Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 1980;25(11-12):831-2.
11. Büyükyilmaz T, Ogaard B, Rølla G. The resistance of titanium tetrafluoride-treated human enamel to strong hydrochloric acid. *Eur J Oral Sci* 1997; 105(5 Pt 2):473-7.

12. Carrasco LD, Froner IC, Corona SA, Pécora JD. Effect of internal bleaching agents on dentinal permeability of non-vital teeth: quantitative assessment. *Dent Traumatol* 2003; 19: 85-89.
13. Chin-Ying SH, Xiaoli G, Jisheng P, Wefel JS. Effects of CO₂ laser on fluoride uptake in enamel. *J Dent* 2004;32(2):161-7.
14. Correr G, Alonso R, Consani S, Puppini-Rontani R, Ferracane J. *In vitro* wear of primary and permanent enamel-Simultaneous erosion and abrasion. *Am J Dent* 2007;20:394-9.
15. Cucchiara S, Bortolotti M, Minella R, Auricchio S. Fasting and postprandial mechanisms of gastroesophageal reflux in children with gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci* 1993; 38(1):86-92.
16. Cury JA, Tenuta LM, Ribeiro CC, Paes Leme AF. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. *Braz Dent J* 2004; 15: 167-174.
17. Cutress TW. The inorganic composition and solubility of dental enamel from several specified population groups. *Arch Oral Biol* 1972; 17(1):93-109.
18. da Silva Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Nobre-dos-Santos M. Physical and compositional changes on demineralized primary enamel induced by CO₂ Laser. *Photomed Laser Surg* 2009;27(4):585-90.
19. Dahshan A, Patel H, Delaney J, Wuerth A, Thomas R, Tolia V. Gastroesophageal reflux disease and dental erosion in children. *J Pediatr* 2002; 140(4):474-8.
20. Davies AE, Sandhu BK. Diagnosis and treatment of gastro-oesophageal reflux. *Arch Dis Child* 1995; 73(1):82-6.
21. de Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech* 2010; 73(5):572-7.
22. Dent J, El-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2005; 54(5):710-7.
23. Downer MC. The 1993 national survey of children's dental health. *Br Dent J* 1995; 178(11):407-12.

24. Ersin NK, Onçağ O, Tümgör G, Aydoğdu S, Hilmioğlu S. Oral and dental manifestations of gastroesophageal reflux disease in children: a preliminary study. *Pediatr Dent* 2006; 28(3):279-84.
25. Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Meister J, Franzen R, Stanzel S, Lampert F, Eduardo CP, Apel C. CO₂ laser (10.6 microm) parameters for caries prevention in dental enamel. *Caries Res* 2009;43(4):261-8.
26. Featherstone JD, Barrett-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz Z, Seka W. CO₂ laser inhibitor of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res* 1998;77(6):1397-403.
27. Featherstone JD, Fried D, Bitten ER. Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel. In: *Lasers in dentistry III*. Bellingham, WA: SPIE, 1997; 2973:112-116.
28. Featherstone JD, Nelson DG. Laser effects on dental hard tissues. *Adv Dent Res* 1987; 1(1):21-6
29. Fejerskov O, Stephen KW, Richards A, Speirs R. Combined effect of systemic and topical fluoride treatments on human deciduous teeth-case studies. *Caries Res* 1987; 21(5):452-9.
30. Ferreira JM, Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ. Effects of continuous-wave CO₂ laser on the ultrastructure of human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1989;34(7):551-62.
31. Fowler BO, Kuroda S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif Tissue Int* 1986;38(4):197-208.
32. Fried D, Seka W, Glena RE, Featherstone JDB. Thermal response of hard dental tissues to 9-11 µm CO₂ laser irradiation. *Opt Eng* 1996;35:1976-1984.
33. Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents--a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001; 29(4):264-71.
34. Ganss C, Klimek J, Starck C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Arch Oral Biol* 2004;49(11):931-5.

35. Ganss C, Lussi A, Klimek J. Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralisation. *Caries Res* 2005;39(3):178-84.
36. Ganss C, Lussi A, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N. Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res* 2009;43(6):422-9.
37. Hall AF, Sadler JP, Strang R, De Josselin DJ, Foye RH, Creanor SL. Application of transverse microradiography for measurement of mineral loss by acid erosion. *Adv Dent Res* 1997; 11: 420–425.
38. Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci* 2006; 20:88-99.
39. Harley K. Tooth wear in the child and the youth. *Br Dent J* 1999; 186(10):492-6.
40. Hassall E. Decisions in diagnosing and managing chronic gastroesophageal reflux disease in children. *J Pediatr* 2005; 146(3 Suppl):S3-12.
41. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent* 2004;28(2):119-24.
42. Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Mitsuhiro I, Yamada Y, Matsumoto K. Acquired acid resistance of dental hard tissues by CO₂ laser irradiation. *J Clin Laser Med Surg* 1999; 17: 223-226.
43. Hove L, Holme B, Øgaard B, Willumsen T, Tveit AB. The protective effect of TiF₄, SnF₂ and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid *in vitro* measured by white light interferometry. *Caries Res* 2006; 40(5):440-3.
44. Hove LH, Young A, Tveit AB. An *in vitro* study on the effect of TiF₍₄₎ treatment against erosion by hydrochloric acid on pellicle-covered enamel. *Caries Res* 2007; 41(1):80-4.
45. Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Laser-matrixfluoride effects on enamel demineralization. *J Dent Res* 2001; 80:1797-1801.

- 46.Hsu CYS, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. J Dent Res 2000; 79: 1725-1730.
- 47.Hsu J, Fox JL, Higuchi WI, Otsuka M, Yu D, Powell GL. Heat-treatment-induced reduction in the apparent solubility of human dental enamel. J Dent Res 1994; 73(12):1848-53.
- 48.Hughes J, West N, Addy M. The protective effect of fluoride treatments against enamel erosion *in vitro*. J Oral Rehabil 2004;31:357–63.
- 49.Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment. J Dent 2000b;28(4):257-63
- 50.Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. Relative susceptibility of deciduous and permanent dental hard tissues to erosion by a low pH fruit drink *in vitro*. J Dent 2000a; 28(4):265-70.
- 51.Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci 1996; 104(2 (Pt 2)):151-5.
- 52.Johansson AK, Sorvari R, Birkhed D, Meurman JH. Dental erosion in deciduous teeth-an *in vivo* and *in vitro* study. J Dent 2001; 29(5):333-40.
- 53.Jones L, Lekkas D, Hunt D, McIntyre J, Rafir W. Studies on dental erosion: An *in vivo-in vitro* model of endogenous dental erosion--its application to testing protection by fluoride gel application. Aust Dent J 2002; 47(4):304-8.
- 54.Jones SG, Nunn JH. The dental health of 3-year-old children in east Cumbria 1993. Community Dent Health 1995; 12(3):161-6.
- 55.Jordan TH, Wei SHY, Bromberger SH, King JC. Sn₍₃₎F₍₃₎PO₍₄₎: The product of the reaction between stannous fluoride and hydroxyapatite. Arch Oral Biol 1971;16:241–6.
- 56.Jordão MC, Schiavoni RJ, Serra MC, Turssi CP. Efeito da frequência de aplicação de géis fluoretados no controle da erosão em esmalte. Arq Odontol 2008; 44(1):17-22.
- 57.Kantola S. Laser induced effects on tooth structure. IV. A study of changes in the calcium and phosphorus contents in dentine by electron probe microanalysis. Acta Odontol Scand 1972; 30: 463-74.

-
- 58.Kantorowitz Z, Featherstone JD, Fried D. Caries prevention by CO₂ laser treatment: dependency on the number of pulses used. J Am Dent Assoc 1998; 129(5):585-91.
 - 59.Kawahara H, Dent J, Davidson G. Mechanisms responsible for gastroesophageal reflux in children. Gastroenterology 1997; 113(2):399-408.
 - 60.Kazoullis S, Seow WK, Holcombe T, Comm B, Newman B, Ford D. Common dental conditions associated with dental erosion in schoolchildren in Australia. Pediatr Dent 2007; 29(1):33-9.
 - 61.Klein AL, Rodrigues LK, Eduardo CP, Santos MN, Cury JA. Caries inhibition around composite restorations by pulsed carbon dioxide laser application. Eur J Oral Sci 2005;113: 239-244.
 - 62.Krejci I, Simunovic K, Lutz F. Substance ablation with a superpulsed CO₂ laser. Schweiz Monatsschr Zahnmed 1992;102(6):693-9.
 - 63.Kuroda S, Fowler BO. Compositional, structural, and phase changes *in vitro* laser-irradiated human tooth enamel. Calcif Tissue Int 1984;36(4):361-9.
 - 64.Larsen MJ, Richards A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. Caries Res 2002;36(1):75-80.
 - 65.Larsen MJ. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. Caries Res 2001; 35(3):229-34.
 - 66.Larsen RR. Gastroesophageal reflux disease: gaining control over heartburn. Postgrad Med 1997; 101(2):181-2, 185-7.
 - 67.Linnett V, Seow WK, Connor F, Shepherd R. Oral health of children with gastro-esophageal reflux disease: a controlled study. Aust Dent J 2002; 47(2):156-62.
 - 68.Lippert F, Parker D, Jandt K. Susceptibility of deciduous and permanent enamel to dietary acid-induced erosion studied with atomic force microscopy nanoindentation. Eur J Oral Sci 2004;112:61–6.
 - 69.Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. Am J Dent 2006;19(6):319-25.
 - 70.Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. Caries Res 2004; 38: 34-44.
 - 71.Lussi A, Jaeggi T. Chemical factors. Monogr Oral Sci 2006; 20:77-87.

-
72. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an *in vitro* model. *Eur J Oral Sci* 2000;108:110–4.
73. Lussi A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci* 2006;20:1-8.
74. Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on the erosion of permanent and deciduous human enamel: an *in situ/ex vivo* study. *J Appl Oral Sci* 2009;17(1):56-60.
75. McCormack SM, Fried D, Featherstone JDB, Glena RE, Seka W. Scanning electron microscope observations of CO₂ laser effects on dental enamel. *J Dent Res* 1995; 74(10):1702-8.
76. Meurman JH, Hemmerlé J, Voegel JC, Rauhamaa-Mäkinen R, Luomanen M. Transformation of hydroxyapatite to fluorapatite by irradiation with high-energy CO₂ laser. *Caries Res* 1997; 31(5):397-400.
77. Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(2 (Pt 2)):199-206.
78. Meurman JH, Voegel JC, Rauhamaa-Mäkinen R, Gasser P, Thomann JM, Hemmerle J, Luomanen M, Paunio I, Frank RM. Effects of carbon dioxide, Nd:YAG and carbon dioxide-Nd:YAG combination lasers at high energy densities on synthetic hydroxyapatite. *Caries Res* 1992;26(2):77-83.
79. Millward A, Shaw L, Smith A. Dental erosion in four-year-old children from differing socioeconomic backgrounds. *ASDC J Dent for Children* 1994; 61:263-6.
80. Mok T, McIntyre J, Hunt D. Dental erosion: *in vitro* model of wine assessor's erosion. *Aust Dent J* 2001;46:263–8.
81. Moritz A, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Ebrahim D, Wernisch J, Sperr W. The advantage of CO₂-treated dental necks, in comparison with a standard method: results of an *in vivo* study. *J Clin Laser Med Surg* 1996;14(1):27-32.
82. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Aoid M, Reichenbach P, Lothaller MA, Wernisch J, Sperr W. Long-term effects of CO₂ laser irradiation on

- treatment of hypersensitive dental necks: results of an *in vivo* study. J Clin Laser Med Surg 1998;16(4):211-5.
83. Murakami C, Bönecker M, Corrêa MS, Mendes FM, Rodrigues CR. Effect of fluoride varnish and gel on dental erosion in primary and permanent teeth. Arch Oral Biol 2009;54(11):997-1001.
 84. Naujoks R, Schade H, Zelinka F. Chemical composition of different areas of the enamel of deciduous and permanent teeth (The content of Ca, P, CO₂, Na and N₂). Caries Res 1967;1(2):137-43.
 85. Nelson DG, Logebloed WL, Featherstone JDB. Laser irradiation of human dental enamel and dentine. N Z Dent J 1986; 82: 74-77.
 86. Nelson DG, Wefel JS, Jongebloed WL, Featherstone JD. Morphology, histology and crystallography of human dental enamel treated with pulsed low energy infrared laser radiation. Caries Res 1987;21:411-426.
 87. Orenstein SR. Infantile reflux: different from adult reflux. Am J Med 1997; 24;103(5A):114S-119S.
 88. O'Sullivan EA, Curzon ME, Roberts GJ, Milla PJ, Stringer MD. Gastroesophageal reflux in children and its relationship to erosion of primary and permanent teeth. Eur J Oral Sci 1998;106(3):765-9.
 89. Patel CKN, McFarlane RA, Faust WL. Selective excitation through vibrational energy transfer and optical maser action in N₂-CO₂. Physiological Reviews 1964; 13:617-9.
 90. Pécora JD, Souza Neto MD, Costa WF. Apresentação de um método químico que revela *in vitro* a passagem do peróxido de hidrogênio a 30% através da dentina radicular. Rev Paul Odontol 1991; 13:34-7.
 91. Penna FJ, Norton RC. Gastroesophageal reflux. J Pediatr (Rio J) 2000; 76 Suppl 1:S218-24.
 92. Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive *in vitro* study of the CaF₍₂₎ precipitation and microstructure. Caries Res 2001;35:45–51.
 93. Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Featherstone JD. *In situ* mineral loss inhibition by CO₂ laser and fluoride. J Dent Res 2006; 85(7):617-21.
 94. Rudolph CD, Mazur LJ, Liptak GS, Baker RD, Boyle JT, Colletti RB, Gerson WT, Werlin SL, North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. Guidelines for evaluation and treatment

- of gastroesophageal reflux in infants and children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;32 Suppl 2:S1-31.
95. Saunders JG, McIntyre JM. The ability of 1.23% acidulated phosphate fluoride gel to inhibit simulated endogenous erosion in tooth roots. *Aust Dent J* 2005; 50(4):263-6.
96. Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues Jr AL, Serra MC, Pécora JD, Fröner IC. Assessing the effect of bleaching agents on enamel permeability. *Am J Dent* 2006; 19:313-6.
97. Schlueter N, Duran A, Klimek J, Ganss C. Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel *in vitro*. *Caries Res* 2009a; 43: 10–16.
98. Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C. Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: an *in vitro* tin-uptake, tissue-loss, and scanning electron micrograph study. *Eur J Oral Sci* 2009b;117(4):427-34.
99. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of tin-containing solutions on erosive mineral loss in enamel and dentine *in situ*. *Clin Oral Investig* 2010; 19. *In press*.
100. Schlueter N, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Ganss C. Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine *in vitro*. *Acta Odontol Scand* 2010; 25. *In press*.
101. Schroeder PL, Filler SJ, Ramirez B, Lazarchik DA, Vaezi MF, Richter JE. Dental erosion and acid reflux disease. *Ann Intern Med* 1995; 122(11):809-15.
102. Shannon IL. Fluoride treatment programs for high-carries-risk patients. *Clin Prev Dent* 1982;4(2):11-20.
103. Shaw L, Weatherill S, Smith A. Tooth wear in children: an investigation of etiological factors in children with cerebral palsy and gastroesophageal reflux. *ASDC J Dent Child* 1998; 65(6):484-6, 439.
104. Shepherd RW, Wren J, Evans S, Lander M, Ong TH. Gastroesophageal reflux in children. Clinical profile, course and outcome with active therapy in 126 cases. *Clin Pediatr (Phila)* 1987; 26(2):55-60.

105. Souza MR, Watanabe I, Azevedo LH, Tanji EY. Morphological alterations of the surfaces of enamel and dentin of deciduous teeth irradiated with Nd:YAG, CO₂ and diode lasers. *Int J Morphol* 2009; 27(2):441-446.
106. Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, Zero DT, Eckert G, Hara AT. Effect of a pulsed CO₂ laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. *Arch Oral Biol* 2010; 55(2):127-33.
107. Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Lima EB, Nobre-dos-Santos M. Effect of the CO₂ laser combined with fluoridated products on the inhibition of enamel demineralization. *J Contemp Dent Pract* 2008; 9(2):113-21.
108. Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Zezell DM, Nobre-dos-Santos M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-microm CO₂ laser on the inhibition of enamel demineralization. *Dent Mater J* 2006; 25(3):455-62.
109. Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res* 1972; 51(2):455-60.
110. Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Soares LE, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an *in vitro* study. *Caries Res* 2007;41(1):74-6.
111. Taji SS, Seow WK, Townsend GC, Holcombe T. A controlled study of dental erosion in 2- to 4-year-old twins. *Int J Paediatr Dent* 2010;20(6):400-9.
112. Ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interaction between the tooth and the oral fluids. In: Fejerskov O, Kidd EAM (eds): *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*, 2nd ed., Oxford, Blackwell Publishing Ltd, 2008, pp 209-31.
113. ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999; 57: 325-329.

-
114. Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO₂ laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel *in vitro*. J Dent 2004; 32(8):635-41.
 115. Thylstrup A, Fejerskov O, Larsen MJ. Polarized light microscopy of enamel structure in incisors from newborn infants. Scand J Dent Res 1976; 84(5):243-54.
 116. Tolia V, Vandenplas Y. Systematic review: the extra-oesophageal symptoms of gastro-oesophageal reflux disease in children. Aliment Pharmacol Ther 2009; 29(3):258-72.
 117. Tsai CL, Lin YT, Huang ST, Chang HW. *In vitro* acid resistance of CO₂ and Nd-YAG laser-treated human tooth enamel. Caries Res 2002; 36(6):423-9.
 118. Turssi CP, Alves VD, Serra MC. Suitability of bovine root dentin for studies on permeability of erosion lesions. Caries Res 2005; 39 (abstract 132):287-340.
 119. Turssi CP, Schiavoni RJ, Serra MC, Fröner IC. Permeability of enamel following light-activated power bleaching. Gen Dent 2006; 54:323-6.
 120. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Lones R, the Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. Am J Gastroenterol 2006; 101:1900–1920.
 121. van Rijkom H, Ruben AJV, Huysmans MC, Truin GJ, Mulder J. Erosion inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment *in vitro*. Eur J Oral Sci 2003; 111: 253-257.
 122. Vandenplas Y, Ashkenazi A, Belli D, Boige N, Bouquet J, Cadranel S, Cezard JP, Cucchiara S, Dupont C, Geboes K, et al. A proposition for the diagnosis and treatment of gastro-oesophageal reflux disease in children: a report from a working group on gastro-oesophageal reflux disease. Working Group of the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). Eur J Pediatr 1993; 152(9):704-11.
 123. Vandenplas Y, Lifshitz JZ, Orenstein S, Lifschitz CH, Shepherd RW, Casaubón PR, Muinos WI, Fagundes-Neto U, Garcia Aranda JA,

124. Gentles M, Santiago JD, Vanderhoof J, Yeung CY, Moran JR, Lifshitz F. Nutritional management of regurgitation in infants. *J Am Coll Nutr* 1998; 17(4):308-16.
125. Wang L, Tang R, Bonstein T, Bush P, Nancollas G. Enamel demineralization in primary and permanent teeth. *J Dent Res* 2006;85:359–63.
126. Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dent Clin North Am* 2010;54(3):565-78.
127. Wiegand A, Magalhães AC, Navarro RS, Schmidlin PR, Rios D, Buzalaf MA, Attin T. Effect of titanium tetrafluoride and amine fluoride treatment combined with carbon dioxide laser irradiation on enamel and dentin erosion. *Photomed Laser Surg* 2010; 28(2):219-26.
128. Willumsen T, Ogaard B, Hansen BF, Rølla G. Effects from pretreatment of stannous fluoride versus sodium fluoride on enamel exposed to 0.1 M or 0.01 M hydrochloric acid. *Acta Odontol Scand* 2004; 62(5):278-81.
129. Wilson PR, Beynon AD. Mineralization differences between human deciduous and permanent enamel measured by quantitative microradiography. *Arch Oral Biol* 1989; 34(2):85-8.
130. Zero DT. Etiology of dental erosion--extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(2 (Pt 2)):162-77.
131. Zuerlein MJ, Fried D, Featherstone JD. Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel. *Lasers Surg Med* 1999;25(4):335-47.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Avenida do Café, s/nº - Telefone: (016) 3602-3963
14040-904 – Ribeirão Preto - SP - Brasil
Fax: (016) 3633-0999

OF.CEP/380/FORP

Ribeirão Preto, 26 de novembro de 2007.

Prezado (a) Professor(a),

Ref.: Processo nº 2007.1.1133.58.4
Caae n. 0057.0.138.000-07

De ordem da Senhora Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade, informamos que o referido Comitê, em sua 83ª Sessão, realizada no dia 22 de novembro de 2007, **aprovou** o Projeto de Pesquisa envolvendo seres humanos intitulado: **"Influência do laser de CO2 associado a uma fonte de fluoreto no controle da erosão em esmalte de dente decíduo"**, a ser desenvolvido por Vossa Senhoria na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, devendo o atestado para publicação final ser expedido pelo Comitê de Ética em Pesquisa, após a entrega e aprovação do Relatório Final pelo referido Comitê.

Na oportunidade, esclarecemos que o **Relatório Final** deverá ser encaminhado à Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa até o dia **30 de dezembro de 2008**, acompanhado do Formulário que se encontra no *site* da FORP/USP (*link*: Colegiados e Comissões - Comitê de Ética em Pesquisa – Formulários do Pesquisador para entrega dos Relatórios Parcial ou Final).

Atenciosamente,

Luci Rose Nassif Menezes

Secretária "ad hoc" do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilma. Sra.

P.G. CRISTIANE TOMAZ ROCHA

Pós-Graduanda do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social - FORP/USP

GDR/bgcp