

FERNANDA BRANDÃO MOLLICA

**EFEITO DO LASER DE Nd:YAG E DO FLUORETO DE
SÓDIO NA PREVENÇÃO DA EROSÃO EM DENTINA
BOVINA ATRAVÉS DE PERFILOMETRIA**



2011

FERNANDA BRANDÃO MOLLICA

**EFEITO DO LASER DE Nd:YAG E DO FLUORETO DE SÓDIO NA
PREVENÇÃO DA EROSÃO EM DENTINA BOVINA
ATRAVÉS DE PERFILOMETRIA**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Univ Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade Dentística.

Orientadora: Profa. Titular Maria Amélia Maximo de Araujo
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Filomena R. Lima Huhtala

São José dos Campos

2011

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Amélia Maximo de Araujo (Orientador)

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
UNESP – Univ Estadual Paulista

Prof. Adj.. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
UNESP – Univ Estadual Paulista

Prof. Dr. Sergio Ricardo Garcia Badini

Faculdade de Odontologia
Universidade Metropolitana de Santos - UNIMES

Prof. Dr. George Miguel Spyrides

Faculdade de Odontologia do Centro de Ciências de Saúde
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Prof. Adjunto Silvio Issáo Myaki

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
UNESP – Univ Estadual Paulista

São José dos Campos, 1 de julho de 2011.

DEDICATÓRIA

A **Deus**, por abençoar a minha vida e me dar saúde e persistência para nunca desistir dos desafios.

Aos meus amados pais,

Eduardo e Isabel,

que sempre fizeram o melhor em benefício da minha educação e do meu futuro, sem medir esforços, sem esperar retribuição alguma. Com vocês, aprendi que nada na vida é impossível com trabalho, esforço, humildade e honestidade. Com esses princípios fui galgando os degraus, vencendo obstáculos.....e hoje estou aqui!

Pai e mãe, essa conquista também é de vocês!

Recebam meus sinceros agradecimentos e todo o meu carinho!

Às minhas queridíssimas avós, **Nair e Nicéa**, sempre preocupadas comigo e presentes em todos os momentos da minha vida. Que bom é poder compartilhar mais um momento feliz, mais uma etapa cumprida com vocês! Obrigada por todo o incentivo e apoio que me dão!

Aos meus avôs, **Lenine e João (in memoriam)**. Sei que mesmo não estando mais entre nós, vocês torcem por mim, querem o meu sucesso. As lembranças e os sentimentos jamais morrem e vocês fazem parte do que eu sou hoje também!

Ao meu noivo, meu amor, **Fabio**. A nossa união é um exemplo de que o amor tudo vence, tudo supera. Obrigada por se sacrificar nas idas e vindas viajando em favor do nosso amor! Obrigada por me tranquilizar nos momentos de dificuldade e ansiedade.

Sei que muitas vezes não pude te dar a atenção merecida em função das minhas inúmeras atividades, mas você resistiu!

Você é muito especial e importante em minha vida!

À minha querida orientadora, ***Profa. Maria Amélia***.

Ao todo, foram seis anos de convivência no Mestrado e Doutorado como sua orientada, o que faz com que eu me sinta uma pessoa muito privilegiada.

Contar com alguém de tal competência e eficiência durante tanto tempo não é para qualquer um!

Obrigada pela confiança, incentivo e por ter ajudado na minha formação como pesquisadora, profissional e pessoa.

Minha eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

Aos meus tios e tias **Marlene, Pia, Gilson, Jarina, Tadeu, Luiza, Sérgio e Ricardo** e aos meus primos, **Davi, Guigui, Álvaro, João, Pedro e Gabizinha**. Apesar de estarmos distantes, vocês são muito importantes para mim e sei que estão sempre torcendo pelo meu sucesso.

À minha amiga desde o tempo de ensino médio **Cassia**, pela amizade verdadeira que resiste ao tempo e à distância. Obrigada por ser essa pessoa tão sincera e meiga, sempre disposta a ouvir e aconselhar.

À **Celina**, amiga desde os tempos da Faculdade, por quem tenho grande carinho. Quantas longas conversas e desabafos! Verdadeiras sessões de terapia! Espero tê-la sempre por perto, Cê.

À amiga de infância **Olívia**. Mesmo não estando próximas uma da outra nos últimos anos, sei que a nossa amizade é eterna!

À **Jane**, amiga e secretária do lar, que tanto me apóia em todos os momentos.

Aos meus sogros, **Rui e Claudia**, pelo incentivo e apoio.

Às amigas conquistadas neste período de curso **Lilian e Alessandra**, que fizeram deste período mais agradável. Vocês estarão sempre em minhas lembranças.

Ao querido **Prof. Ivan Balducci**, não apenas pela realização da análise estatística deste trabalho com tanto cuidado e atenção, mas por ser uma pessoa com quem eu sei que posso contar a qualquer momento, um amigo.

Ao **Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres** que colocou à minha disposição os materiais para preparo das soluções utilizadas neste trabalho.

À **Maísa**, que foi meu braço direito no meu consultório durante boa parte do curso, reduzindo as minhas preocupações e permitindo que eu pudesse me dedicar mais à realização da tese.

À **Paula Tamião Arantes**, aluna da graduação que me auxiliou no preparo das soluções.

À ACD e amiga da UBS onde trabalho, **Cris**, pela sua compreensão nos momentos de desespero durante a parte experimental da tese e agora durante a reta final. Cris, saiba que tenho muito carinho por você e obrigada por tentar me poupar em muitos momentos.

À supervisora da UBS onde trabalho, **Francine**, por sempre compreender as minhas necessidades e permitir que eu alterasse meus horários quando precisasse. Receba meu sincero agradecimento Fran.

Aos outros colegas e amigos da UBS Cidade Salvador **Márcia, Diná, Maria Helena, Leila, Goreti, Raquel, Seredil, Célia, Silvia, Rosangela e todos os outros**, pelo companheirismo, conversas, desabafos. Trabalhar com vocês me faz muito bem.

Aos professores da Disciplina de Dentística **Prof. Dr. Sergio Eduardo de Paiva Gonçalves** e **Profa. Dra. Maria Filomena R. Lima Huhtala** com os quais compartilhei momentos agradáveis e de aprendizado nas clínicas de segunda-feira à noite.

Ao ex-coordenador e à atual coordenadora da Pós-graduação em Odontologia Restauradora, **Prof. Dr Clovis Pagani** e **Profa. Dra Marcia Carneiro Valera Garakis**, pelo apoio e auxílios concedidos.

À **Faculdade de Odontologia de São José dos Campos**, da qual tenho muito orgulho, pois foi onde me graduei, fiz Estágio, Mestrado e agora estou terminando o Doutorado, cursos que tanto contribuíram para tudo o que sou e conquistei hoje como profissional.

À **Fundunesp**, pelo auxílio concedido para realização do MEV e EDS, bem como pelo auxílio concedido para participação de Congresso Internacional durante o curso.

À **Maria Lúcia** do **INPE**, pelo auxílio imprescindível na realização do MEV e EDS.

Aos **Professores da Pós-Graduação e da Faculdade** pelos ensinamentos.

Ao **Carlos Guedes**, por responder às dúvidas burocráticas relativas a auxílios, Comitê de Ética e etc.

Às **Secretárias da Seção de Pós-Graduação, Erena e Rose**, pelo apoio e esclarecimentos durante todo o curso.

E a todos que de alguma forma participaram desta fase da minha vida.

Meu muito obrigada!

*"Só existem dois dias do ano em que nada pode ser feito:
um se chama ontem e o outro, amanhã.*

*Portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e,
principalmente, viver."*

Dalai Lama

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE QUADROS E TABELAS	17
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	19
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1 Características gerais da erosão dental	26
2.1.1 Fatores comportamentais	27
2.1.2 Fatores biológicos.....	29
2.1.3 Fatores químicos	30
2.2 Fluoretos <i>versus</i> erosão dentinária	31
2.3 Ação de lasers sobre a dentina	37
2.4 Combinação de lasers com fluoretos <i>versus</i> erosão dental.....	41
3 PROPOSIÇÃO	44
4 MATERIAL E MÉTODO	45
4.1 Preparo dos espécimes para perfilometria.....	45
4.2 Tratamentos de superfície	47
4.3 Desafio de erosão e perfilometria	49
4.4 Preparo dos espécimes para EDS e MEV	52
4.5 Delineamento Experimental	55
4.6 Planejamento experimental e Análise estatística	56
4.6.1 Dados de Perfilometria.....	56
4.6.2 Dados de EDS e MEV	57
5 RESULTADOS	58
5.1 Perfilometria.....	58
5.2 EDS e MEV.....	62

6 DISCUSSÃO	70
6.1 Da metodologia	70
6.2 Dos resultados	75
7 CONCLUSÕES.....	83
8 REFERÊNCIAS	84
APÊNDICES.....	94
ANEXO	101

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Passo-a-passo da obtenção das amostras de dentina bovina. A) coroa do dente bovino após remoção da raiz; B) exposição da dentina vestibular através de desgaste em politriz; C) demarcação com régua e lápis para padronização do tamanho; D) bloco de dentina de 7 mm x 5 mm; E) bloco de dentina incluído em resina acrílica autopolimerizável com superfície dentinária exposta..... 46
- Figura 2 - Dente bovino incluído em resina acrílica, com superfície dentinária exposta e protegida com a fita de teflon para seladora..... 47
- Figura 3 - Laser Nd:YAG e sua aplicação. A) Aparelho de laser Nd:YAG utilizado. B) ponta de fibra óptica do laser Nd:YAG; C) aplicação do laser sobre a superfície dentinária..... 48
- Figura 4 - Aplicação da fina camada de verniz de flúor com microbrush sobre a superfície dentinária..... 49
- Figura 5 - Esquema diário do desafio erosivo..... 50
- Figura 6 - Forma de remoção da fita para seladora e perfilometria em rugosímetro em cada etapa. A) Remoção de metade da fita para a perfilometria da Etapa 1. B) Perfilometria Etapa 1; C) Remoção do restante da fita para a perfilometria da Etapa 2; D) Perfilometria Etapa 2 e 3..... 51

Figura 7 - Rugosímetro.....	51
Figura 8 - Exemplo de gráfico originado pela análise de perfilometria no rugosímetro. Em vermelho está demonstrada a medida, em μm , da perda de estrutura dentinária.....	52
Figura 9 - Esquema da obtenção da fatia de dentina. A) Dente bovino incluído em resina acrílica quimicamente ativada; B) Corte longitudinal no sentido mésio distal para remover esmalte vestibular; C) Fatia de dentina, D) Fatia de dentina demarcada, E) Fatia de dentina após recorte com broca de alta rotação.....	53
Figura 10 - Gráfico de colunas (média e desvios-padrão), em μm , para as condições experimentais estabelecidas pelos fatores em estudo: Tratamentos de superfície e Etapas (2 e 3).....	59
Figura 11 - Gráfico de colunas (média e desvios-padrão), em μm , das condições experimentais estabelecidas pelos Tratamentos de superfície e Etapa 1.....	59
Figura 12 - Ajuste dos valores resíduos à curva normal de probabilidade elucidando a homocedasticidade, o que justifica a utilização do teste paramétrico.....	60
Figura 13 - Gráfico de médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Tratamentos de superfície e Etapas (2 e 3).....	61
Figura 14 - Porcentagem de cálcio encontrada nas diferentes condições experimentais estabelecidas pelos tratamentos de superfície e etapas.....	64

Figura 15 - Porcentagem de fósforo encontrada nas diferentes condições experimentais estabelecidas pelos tratamentos de superfície e etapas.....	64
Figura 16 - MEV da Etapa 0 para cada um dos tratamentos de superfície. A superfície dentinária apresenta-se regular com túbulos dentinários completamente ou parcialmente obliterados.....	66
Figura 17 - MEV da Etapa 1 para cada um dos tratamentos de superfície. C, L e LF) aparência semelhante à Etapa 0; F) nota-se a presença de remanescentes de verniz de flúor formando depósitos sobre a superfície e túbulos dentinários totalmente ou parcialmente fechados; FL) presença de mais túbulos dentinários abertos em relação à Etapa 0, sendo que a maioria deles apresenta depósitos em seu interior.....	67
Figura 18 - MEV da Etapa 2 para cada um dos tratamentos de superfície. Todos os espécimes apresentaram aumento do diâmetro e da quantidade de túbulos dentinários abertos em relação à Etapa 1. Os espécimes F e FL apresentaram menos túbulos abertos e em menor diâmetro do que os demais, sendo que a superfície do FL apresentou-se mais irregular e parecia conter uma camada de dentina com aparência de “derretida”.....	68
Figura 19 - MEV da Etapa 3 para cada um dos tratamentos de superfície. As superfícies dentinárias apresentaram-se mais irregulares do que na Etapa 2, especialmente nos espécimes LF e FL, onde se nota a presença de crateras de erosão. O espécime FL apresentou crateras mais profundas e a camada de dentina “derretida” ainda permaneceu sobre a superfície. A aparência dos espécimes C, F e L foi semelhante, contendo a maioria dos túbulos	

dentínários abertos.....	69
--------------------------	----

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Composição da saliva artificial.....	50
Tabela 1- Estatística descritiva dos dados de perda de estrutura dentinária (em μm) nas diferentes condições experimentais.....	58
Tabela 2 - ANOVA de medidas repetidas para os dados de perda de estrutura dentinária (em μm) obtidos nas condições experimentais estabelecidas pelos fatores em estudo: Tratamentos de superfície e Etapas (2 e 3).....	60
Tabela 3 - Formação de grupos de mesmo desempenho após o teste de Tukey (5%) para as dez condições experimentais.....	62
Quadro 2 - Porcentagens de cálcio e fósforo encontradas nas diferentes condições experimentais estabelecidas pelos fatores de estudo: Tratamentos de superfície e Etapas.....	63
Quadro 3 - Médias das perdas de estrutura dentinária, em μm , da etapa 2 (pós-erosão), da etapa de transição de 2 para a 3 (pós-armazenamento) e da Etapa 3 (pós- erosão + armazenamento); porcentagens de perda em relação ao valor final obtido na Etapa 3.....	78
Quadro 4 - Variação da porcentagem de minerais entre as etapas avaliadas por EDS.....	80
Quadro 5 - Valores de microdureza Knoop (em HK) para	

padronização dos espécimes..... 94

Quadro 6 - Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura..... 96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AmF = fluoreto de amerício

ANOVA = análise de variância

°C = graus Celsius

Ca = cálcio

CaF₂ = fluoreto de cálcio

cm² = centímetro quadrado

CuSO₄ = sulfato de cobre

EDS = Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raio-x

Er:YAG = erbium: yttrium aluminium garnet

F⁻ = fluoreto

FFA = flúor fosfato acidulado

g = grama

h = hora

HCl = ácido clorídrico

HfF₄ = fluoreto de háfnio

Hz = hertz

J/cm² = joules por centímetro quadrado

µl = microlitro

M = Molar

µm = micrometro

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

min = minuto

mJ = milijoule

mJ/cm² = milijoules por centímetro quadrado

mL = mililitro

mm = milímetro

mm/s = milímetro por segundo

mW/cm² = miliwatt por centímetro quadrado

NaF = fluoreto de sódio

Nd:YAG = neodymium: yttrium aluminium garnet

nm = nanometro

nmol/mm² = número de mol por milímetro quadrado

n^o = número

P = fósforo

PO₄ = fosfato

ppm = parte por milhão

s = segundo

µs = microsegundo

Sn = estanho

SnCl₂ = cloreto de estanho

SnF₂ = fluoreto de estanho

α-TCP = α -tri-cálcio-fosfato

β-TCP = β-tri-cálcio-fosfato

Ti = titânio

TiF₄ = fluoreto de titânio

VAS = escala visual analógica

W = watt

Zn = zinco

ZnF₂ = fluoreto de zinco

ZrF₄ = fluoreto de zircônio

Mollica FB. Efeito do laser de Nd:YAG e do fluoreto de sódio na prevenção da erosão em dentina bovina através de perfilometria [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP – Univ Estadual Paulista, 2011.

RESUMO

Este estudo avaliou, através de perfilometria, a influência do laser de Nd:YAG, do verniz de flúor e da associação de ambos na perda de estrutura dentinária após 5 dias de desafio erosivo e após 7 dias de armazenamento em saliva artificial. Sessenta blocos de dentina bovina foram incluídos em resina acrílica, polidos e limpos em ultra-som. Cinco grupos (n=12) foram obtidos: C (controle); F (verniz NaF 5% por 6h); L (laser Nd:YAG: 1 W, 100 mJ, 10 Hz, 30 s, 124,37 J/cm²); LF (laser + verniz NaF); FL (verniz NaF + laser). Previamente aos tratamentos, metade da superfície foi protegida com fita para seladora e, após, realizou-se o desafio erosivo (ácido cítrico, 2 x 15 min/dia, 5 dias). A perfilometria foi realizada em três etapas: 1- após tratamento superfície; 2- após 5 dias de desafio erosivo; 3- após 5 dias de desafio erosivo + 7 dias de armazenamento. O objetivo da etapa 1 foi determinar a perda de estrutura pós-tratamento de superfície. Uma fatia de dentina adicional de cada grupo foi confeccionada para a realização de análise de Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raio-x e de Microscopia Eletrônica de Varredura de cada etapa. Os dados de perfilometria das Etapas 2 e 3 foram analisados estatisticamente através de ANOVA de medidas repetidas dois fatores e Teste de Tukey (p<0,05). As médias de perda de estrutura dentinária na etapa 2, em µm, foram: F (5,50 bcd) >C (4,33 d) >FL (3,46 de) =LF (3,13 de) >L (1,45 e). Na etapa 3, foram: F (8,59 a) = FL (8,19 a) > LF (7,45 ab) >C (6,78 abc) >L (4,35 cd). Concluiu-se que: a) após o desafio erosivo, todos os tratamentos reduziram a perda dentinária, exceto o verniz de flúor; b) após o desafio erosivo seguido de 7 dias de armazenamento, todos os tratamentos perderam a efetividade, exceto o laser de Nd:YAG; c) nenhum dos tratamentos deteve a perda de cálcio e fósforo por erosão; d) todos os tratamentos favoreceram a remineralização da superfície dentinária erodida, e) a análise morfológica não foi conclusiva.

Palavras-chave: Erosão dentária. Dentina. Lasers. Fluoreto de sódio.

Mollica FB. Effect of Nd: YAG laser and sodium fluoride in preventing erosion in bovine dentin by profilometry [doctorate thesis]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2011.

ABSTRACT

This study evaluated, by profilometry, the influence of Nd:YAG laser, fluoride varnish and the combination of both in the dentin structure loss after 5 days of erosive challenge and after 7 days storage in artificial saliva. Sixty bovine dentin blocks were embedded in acrylic resin, polished and cleaned in ultrasound. Five groups (n = 12) were obtained: C (control), F (5% NaF varnish for 6h), L (Nd:YAG laser: 1 W, 100 mJ, 10 Hz, 30 s, 124,37 J/cm²), LF (laser + NaF varnish), FL (NaF varnish + laser). Prior to treatment, half of the surface was protected with sealing tape and, after, the erosive challenge was performed (citric acid, 2 x 15 min/day, 5 days). The profilometry was performed in three steps: 1- after surface treatment, 2- after 5 days of erosive challenge; 3- after 5 days of erosive challenge + 7 days of storage. The objective of step 1 was to determine the structure loss after surface treatment. An additional dentin slice of each group was prepared to perform Energy Dispersive Spectroscopy x-ray analysis of and Scanning Electron Microscopy for each step. Profilometry data of steps 2 and 3 were analyzed with two-way ANOVA for repeated measures and Tukey test (p <0.05). The dentin structure average loss in step 2, in µm, were: F (5.50 bcd) > C (4.33 d) > FL (3.46 de) = LF (3.13 de) > L (1.45 e). In step 3, the average loss were: F (8.59 a) = FL (8.19 a) > LF (7.45 ab) > C (6.78 abc) > L (4.35 cd). It was concluded that: a) after erosive challenge, all treatments reduced dentin loss, except fluoride varnish; b) after erosive challenge and 7 days of storage, all treatments lost their effectiveness, except Nd:YAG laser, c) none of the treatments prevented calcium and phosphorus loss by erosion; d) all treatments contributed to eroded dentin surface remineralization, e) morphological analysis was not conclusive.

Keywords: Tooth Erosion. Dentin. Lasers. Sodium fluoride.

1 INTRODUÇÃO

A erosão está se tornando cada vez mais freqüente na sociedade moderna devido ao aumento do consumo de bebidas ácidas como refrigerantes, bebidas esportivas, sucos de frutas artificiais e naturais (Lussi et al., 2004). Tais bebidas possuem pH inferior a 5, além de conter ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido maléico, citrato de sódio e outros produtos que comumente são utilizados na Odontologia para condicionar o esmalte e a dentina (Prati et al., 2003).

A ação dos ácidos sobre a estrutura dental leva à perda irreversível de tecido dentário, acompanhada de um progressivo amolecimento da superfície (Amaechi, Higham, 2001). Os ácidos responsáveis pela erosão não são produzidos por bactérias, mas sim originados da dieta ou de problemas gastro-esofágicos (Simpson et al., 2001). Assim, este tipo de lesão não cariiosa pode ter causas intrínsecas, quando relacionada à bulimia ou problemas gastro-esofágicos, ou extrínsecas, quando relacionada à ingestão de bebidas, alimentos ou medicamentos ácidos (Erickson, Alevizos, 2001).

Os primeiros estágios desta condição patológica são caracterizados pela perda superficial do esmalte dental, que pode progredir até envolver o tecido dentinário e, eventualmente, levar à exposição pulpar. Assim, a evolução da erosão dental pode levar a problemas de hipersensibilidade, estéticos e até mesmo endodônticos (Nunn, 1996).

Muitos fatores estão envolvidos na dissolução do esmalte por bebidas, incluindo a sua composição, pH e o tempo de permanência na boca (Prati et al., 2003), sendo que já foi demonstrado que a

solubilidade da hidroxiapatita aumenta logaritmicamente com a queda do pH (Hannig C et al., 2005).

Considerando-se a natureza irreversível da perda de estrutura dental por erosão, medidas preventivas são extremamente importantes e devem incluir aconselhamento dietético, estimulação do fluxo salivar, utilização de fluoretos, utilização de medicamentos com efeito-tampão e orientação particular sobre maneira correta de escovação (Lussi, Hellwig, 2006).

Segundo alguns estudos, a aplicação tópica de agentes fluoretados é capaz de diminuir a erosão do esmalte e dentina quando o produto é aplicado de forma freqüente e intensiva (Ganss et al., 2004a, 2008; Lagerweij et al., 2006; Vieira et al., 2005), estando este efeito protetor associado à proteção mecânica oferecida pela precipitação de cristais de fluoreto de cálcio (CaF_2).

Ainda há a necessidade de que formas mais eficientes de se evitar ou diminuir a progressão de lesões de erosão sejam descobertas, já que a maioria das medidas preventivas conhecidas acabam não alcançando êxito, pois são fortemente dependentes da colaboração do paciente. Neste sentido, a utilização de fluoretos de aplicação profissional e a utilização de lasers podem ser uma opção interessante para se prevenir a erosão dental.

Há estudos que evidenciaram a eficácia do uso do laser no aumento da resistência do esmalte à desmineralização (Sognaes, Stern, 1965), bem como a efetividade da associação do uso de laser e terapia com flúor para prevenir a perda de estrutura dental por ácidos orgânicos envolvidos no processo carioso (Anderson et al., 2000; Westerman et al., 2002; Tagomori, Morioka, 1989, Vlacic et al., 2007a). Entretanto, pouco se sabe a respeito dos efeitos isolados do laser e do uso combinado do laser e flúor relacionados à erosão dental, a qual envolve ácidos mais fortes do que os envolvidos no processo carioso (Vlacic et al., 2007b).

Em se falando do efeito combinado dos lasers com flúor na prevenção da erosão, estudo recente (Vlacic et al., 2007b) evidenciou que a aplicação de gel de fluoreto de sódio neutro 1,23% (NaF 1,23%) prévia ao uso de alguns tipos de laser, dentre eles o laser de neodýmium: yttrium aluminium garnet (Nd:YAG), foi capaz de exercer efeito protetor contra a erosão em esmalte humano. Em dentina, somente um trabalho publicado na literatura

avaliou este efeito combinado e verificou-se que o laser de Nd:YAG isoladamente não foi capaz de diminuir a erosão dentinária, mas a sua utilização após o uso de flúor fosfato acidulado (FFA) 1,23% ou de verniz de flúor Duraphat foi capaz de aumentar a resistência da dentina à erosão (Magalhães AC et al., 2008b). Assim, é evidente a carência de estudos sobre a ação combinada de lasers e fluoretos na prevenção da erosão em dentina.

Já se demonstrou que o laser de Nd:YAG é capaz de formar uma camada de dentina derretida, denominada de *melting*, caracterizada pelo fechamento dos túbulos dentinários (Liu et al., 1997). Esta camada forma-se devido ao aumento de temperatura gerado durante a utilização deste laser, havendo a necessidade de se estudar se ela pode exercer efeito protetor no desenvolvimento e progressão de lesões de erosão, tanto em esmalte como em dentina. O mesmo laser pode também levar à redução do diâmetro dos túbulos dentinários e ao selamento de túbulos dentinários abertos.

As mudanças morfológicas induzidas pelo tratamento superficial de estruturas dentais com laser, como a redução do conteúdo de carbonato (Nelson et al., 1987) e o vedamento dos túbulos dentinários, podem levar à redução da progressão de lesões de erosão.

A ação benéfica do flúor está associada com a formação de precipitados semelhantes ao CaF_2 , que podem ocluir os túbulos dentinários e acredita-se que ele possa ter efeito sinérgico ao efeito do laser de Nd:YAG.

Em virtude da importância da descoberta de terapias que não dependam da colaboração do paciente e, além disso, em função da carência de pesquisas sobre a utilização de laser e sua associação com flúor na prevenção da erosão em dentina, decidiu-se realizar este estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo tem a pretensão de esclarecer alguns dos temas que são necessários para a compreensão deste estudo e abordar as pesquisas mais relevantes já realizadas. Para tanto, a revisão de literatura está dividida nos seguintes tópicos: 2.1 Características gerais da erosão dental; 2.2 Fluoretos *versus* erosão dentinária; 2.3 Ação de lasers sobre a dentina; 2.4 Combinação de lasers com fluoretos *versus* erosão dental.

2.1 Características gerais da erosão dental

A erosão dental é definida como a perda de substância dental por exposição ácida sem o envolvimento de bactérias (Litonjua et al., 2003). Este processo é decorrente da ação de ácidos cujo pH é inferior a 4,5, o qual está abaixo do pH crítico tanto para a hidroxiapatita (pH crítico em torno de 5,5) como para a fluorapatita (pH crítico em torno de 4,5) (Thystrup, Fejerskov, 2001). Lembrando que pH crítico é o pH no qual a saliva/placa é saturada em relação à fluorapatita ou à hidroxiapatita, assim quando o pH é menor do que o crítico, ocorre desmineralização. Desta forma, ocorre dissolução destes minerais presentes no esmalte, o que leva à perda irreversível da estrutura dental, gerando uma lesão superficial, a qual é acompanhada pelo amolecimento progressivo da superfície (Lussi, 2006).

Apesar da cárie dentária ser bioquimicamente semelhante à erosão, ela é decorrente da ação de ácidos produzidos por bactérias, cujo pH está em torno de 5,0 a 5,5. Nesta faixa de pH, em esmalte, ocorre perda de hidroxiapatita para o meio, mas a fluorapatita deposita-se na superfície, o que leva à formação de uma lesão subsuperficial, definida clinicamente como mancha branca. A evolução deste processo pode levar ao colapso da camada

superficial, gerando cavitação do esmalte (Fejerskov et al., 1996; Thystrup, Fejerskov, 2001). Clinicamente, a erosão em esmalte apresenta-se como uma superfície lisa e de aspecto brilhante. Característica típica das lesões localizadas na superfície vestibular dos dentes é a presença de uma borda de esmalte separando a lesão da gengiva marginal. As lesões de erosão oclusais são caracterizadas por cúspides arredondadas e presença de concavidades, sendo que a sua progressão faz com que as restaurações fiquem em um nível mais alto do que a superfície dental adjacente. Em casos severos, toda a morfologia da face vestibular ou oclusal pode desaparecer. A distinção entre erosão e atrição na face oclusal é difícil, já que ambas têm características similares (Ganss, Lussi, 2006).

A etiologia da erosão dental é multifatorial, estando relacionada a fatores comportamentais, biológicos e químicos (Lussi, 2006).

2.1.1 Fatores comportamentais

Dentre os fatores comportamentais relacionados ao aparecimento e progressão das lesões de erosão estão a exposição a substâncias ácidas e o trauma mecânico sobre superfícies erodidas.

Quanto ao primeiro fator, deve-se considerar que os ácidos podem ser extrínsecos, quando advindos da dieta, medicamentos e da exposição em função de atividade profissional ou prática de esportes, ou intrínsecos, quando advindos de distúrbios gerais do organismo.

Em relação à **dieta**, a frequência e a duração do contato com a substância ácida são variáveis que contribuem para o desenvolvimento de lesões de erosão (Eisenburger, Addy, 2001; West et al., 2000), assim os pacientes devem ser alertados a evitar a ingestão de alimentos ácidos entre as principais refeições para permitir que a saliva remineralize as superfícies erodidas (Magalhães AC et al., 2009). Além disso, a forma de ingestão de alguns líquidos pode prolongar o tempo de contato do ácido com a cavidade oral. Portanto, deve-se evitar os hábitos de segurar e movimentar o líquido na

boca antes de deglutir, bem como utilizar canudo ou beber o líquido direto do gargalo da garrafa (Bassiouny, Yang, 2005).

Após o contato com alimentos ácidos, recomenda-se a ingestão de alimentos neutralizadores ricos em cálcio como queijos e leite (Gedalia et al., 1991; Lewinstein et al., 1993), bem como enxaguar a boca com água, leite ou soluções fluoretadas (Magalhães AC et al., 2009).

Hábitos de vida insalubres como o consumo de drogas e excesso de bebidas alcoólicas também aumentam o risco de desenvolvimento de lesões de erosão (Zero, Lussi, 2006).

Quanto aos **medicamentos**, alguns deles, como o ácido acetilsalicílico e a vitamina C são bastante ácidos e deve-se ter cautela em relação ao seu uso (Magalhães AC et al., 2009). Outros medicamentos, apesar de não serem ácidos, causam diminuição do fluxo salivar (drogas psicotóxicas, anticolinérgicos, anti-histamínicos, anti-heméticos, medicação para Parkinson) e, por isso, estão associados ao aparecimento de tais lesões.

No que se refere à **atividade profissional e prática de esportes**, algumas profissões como aquelas em que os indivíduos trabalham com recarga e troca de baterias, galvanização e fertilização oferecem grande exposição ao ácido sulfúrico e hidrocloreídrico. Nestes casos, deve-se aconselhar o uso de equipamentos de proteção individual, principalmente de máscaras respiratórias e, além disso, deve-se seguir a legislação referente à saúde do trabalhador que prevê limites de exposição a tais substâncias (Wiegand, Attin, 2007).

Esportistas que nadam frequentemente em piscina com cloro e que ingerem muitas bebidas esportivas ácidas são mais susceptíveis a apresentarem lesões de erosão (Magalhães AC et al., 2009).

Os **distúrbios gerais do organismo** mais relacionados à erosão dental são o vômito e o refluxo gastro-esofágico, os quais contribuem para a presença de ácido gástrico na cavidade oral. Por isso, pacientes que sofrem de distúrbios psicossomáticos, como anorexia e bulimia nervosa, estão bastante sujeitos a apresentarem lesões de erosão. É importante enfatizar que o odontólogo é, muitas vezes, o primeiro a diagnosticar tais distúrbios de alimentação psicossomáticos através da detecção de alterações da estrutura dental (Magalhães AC et al., 2009). Outros distúrbios relacionados ao

desenvolvimento de lesões de erosão são aqueles que causam redução do fluxo salivar, como doenças das glândulas salivares, radioterapia de cabeça e pescoço, Síndrome de Sjögren, diabetes mellitus e insuficiência renal crônica.

O outro fator comportamental, que está relacionado à redução de trauma mecânico, baseia-se no fato de que a escovação, a atrição devido a contato dentário, a fricção pela língua ou a abrasão podem agravar lesões de erosão (Vieira et al., 2006; Ganss et al., 2007a; Wiegand et al., 2008a). Recomenda-se que a escovação não seja realizada imediatamente após a exposição ácida, mas sim que se aguarde 30 a 60 min (Magalhães AC et al., 2009). Deve-se ressaltar que, caso o paciente tenha alto risco à doença cárie, esta recomendação não deve ser feita. Além disso, deve-se utilizar pouca pressão e dentifrícios fluoretados de baixa abrasividade (Magalhães AC et al., 2009).

2.1.2 Fatores biológicos

A qualidade dos tecidos dentais, propriedades da saliva, posição dentária e anatomia dos tecidos moles podem afetar o desenvolvimento de lesões de erosão.

Quanto à **qualidade dos tecidos dentais**, é importante ressaltar as diferenças entre o esmalte e a dentina e entre os dentes permanentes e decíduos. O esmalte permanente é composto de 85% de mineral na forma de hidróxi ou fluorapatita, assim, em pH menor que 4,5, os cristais de apatita dissolvem-se pela ação do ácido, gerando a lesão de forma linear ao longo do tempo (Ganss et al., 2004a). Já a dentina permanente, contém somente 47% de mineral e uma parte orgânica (33%) e de água (20%) considerável. A desmineralização da dentina inicia-se entre a dentina intertubular e peritubular, resultando em ampliação e afunilamento dos túbulos até a dissolução completa da dentina peritubular. Conforme se aumenta a quantidade de colágeno degradado, a taxa de desmineralização da dentina diminui (Ganss et al., 2004a; Ganss et al., 2005).

Nos dentes decíduos, a diferença é que a camada de esmalte e de dentina é mais fina e a dentina é menos mineralizada, assim a dentina é atingida mais rapidamente (Amaechi et al., 1999).

Em relação às **propriedades da saliva**, a sua capacidade tampão e de remineralização, bem como a sua habilidade de formar a película adquirida, exercem papel importante na minimização do desgaste de esmalte e dentina por erosão/abrasão (Hall et al., 1999; Meurman, Frank, 1991). Já foi demonstrado que baixo fluxo salivar e baixa capacidade tampão da saliva estão fortemente associados com a erosão dental (O'Sullivan, Curzon, 2000).

Para se aumentar o fluxo salivar, recomenda-se mascar chicletes sem açúcar (Rios, 2004) ou mesmo fazer a utilização de saliva artificial (Meyer-Lueckel et al., 2006).

Tendo em vista que a película adquirida age como uma barreira física protetora contra os desafios erosivos (Hannig e Balz, 2001; Hannig M et al., 2004), os pacientes de alto risco à erosão deveriam também diminuir a frequência de escovação (Magalhães AC et al., 2009). Também cabe a ressalva de que, se o paciente apresentar alto risco à cárie, esta recomendação não deve ser considerada.

2.1.3 Fatores químicos

Dentre os fatores químicos relacionados à prevenção da erosão, é importante citar a aplicação de flúor e a modificação das bebidas ácidas.

O impacto do **flúor** na prevenção da erosão dental já foi analisado em vários estudos e sua ação é atribuída à formação de precipitados de fluoreto de cálcio (CaF_2) nas superfícies que sofreram erosão (Ganss et al., 2004ab). Ainda há controvérsias quanto à eficiência desta camada de CaF_2 formada na prevenção da erosão, pois parece que ela é rapidamente dissolvida na presença de bebidas ácidas (Ganss et al., 2007b). A eficácia do flúor no processo de des-remineralização está relacionada à concentração e pH do agente fluoretado. Mesmo sem ainda haver estudos in vivo que comprovem a

real eficácia da terapia com agentes fluoretados na prevenção da erosão, vários estudos *in situ* e *in vitro*, já verificaram a sua ação benéfica no impedimento da progressão da erosão (Ganss et al., 2004a; Lagerweij et al., 2006; Vieira et al., 2007; Schlueter et al., 2009; Wiegand et al., 2008c; Wiegand et al., 2009; Magalhães AC et al., 2010), portanto recomenda-se a aplicação profissional de agentes fluoretados de alta concentração para pacientes com lesões de erosão.

A **modificação de bebidas** tem o objetivo de reduzir o potencial erosivo das bebidas ácidas através da adição de íons (cálcio, fosfato e flúor), mas por enquanto ainda não é realidade. Os estudos realizados neste sentido mostram que esta modificação é efetiva, especialmente na prevenção de erosão de esmalte (Barbour et al., 2003, 2005; Hughes et al., 2002).

2.2 Fluoretos *versus* erosão dentinária

Ganss et al. (2004a) estudaram o impacto da matriz orgânica dentinária na eficácia do tratamento com flúor na prevenção da erosão. O estudo envolveu um modelo de des-remineralização *in vitro* por 5 dias. As amostras de dentina humana coronária foram desmineralizadas com ácido cítrico (pH 2,3; 6 x 10 min/dia) e alternadamente armazenadas em uma solução remineralizadora. Os grupos (n=25) foram: G1: somente erosão, sem tratamento com flúor; G2: erosão, dentifrício com flúor (NaF; 0,15% F⁻; 3 x 5 min/dia), enxaguatório bucal (Olaflur/fluoreto de estanho - SnF₂; 0,025 F⁻; 3 x 5 min/dia) e gel (Olaflur/NaF; 1,25% F⁻; nos dias 1 e 3 ao invés de uma vez de uso do dentifrício); G3: erosão e tratamento com flúor igual ao G2, matéria orgânica foi constantemente removida por colagenase adicionada à solução remineralizadora. Na presença de colagenase e tratamento com flúor, observou-se um aumento linear de perda mineral, excedendo significativamente o grupo controle. Na ausência de colagenase e presença do tratamento com flúor, a perda mineral cessou após o 2º dia e foi significativamente menor quando comparada com G1 e G3. Os resultados

indicam que a matriz orgânica dentinária é essencial para a efetividade do fluoreto na prevenção da erosão dental.

Ganss et al. (2004b) avaliaram os efeitos do fluoreto na perda mineral por erosão no esmalte e dentina humanos através de um modelo de ciclo de des-remineralização *in situ*. O estudo envolveu 10 voluntários: 4 (esmalte) e 6 (dentina) com 3 períodos de tratamento de 5 dias cada. As amostras foram incluídas em aparelhos bucais palatais e utilizadas durante dia e noite, exceto durante as refeições, e foram desmineralizadas extra-oralmente com ácido cítrico 0,05 M (pH 2,3) por 6 x 5 min/dia. Após as desmineralizações, o aparelho foi reinserido na boca e a fluoretação foi realizada com dentifrício (SnF₂/Olaflur; 0,14% F⁻) por 3 x 5 min/dia ou com dentifrício combinado com solução fluoretada (SnF₂/Olaflur; 0,025% F⁻) e com gel (NaF/Olaflur; 1,25% F⁻) nos dias 1 e 3 ao invés do dentifrício (tratamento intensivo). No grupo controle, não foi realizada fluoretação. Assim, os grupos existentes foram: Grupo 1- controle (sem fluoretação); Grupo 2- fluoretação com dentifrício; Grupo 3- fluoretação intensiva (dentifrício + solução fluoretada + gel fluoretado). A perda mineral foi determinada com o uso de microradiografia longitudinal. No esmalte, a perda mineral foi de 40,7 ± 15,1 µm no grupo controle, 18,3 ± 12,4 µm após o uso de dentifrício e 5,0 ± 12,2 µm após tratamento intensivo com flúor. Os valores respectivos para dentina foram 49,0 ± 15,4, 35,0 ± 15,5 e 19,8 ± 12,0 µm. Todas as diferenças foram estatisticamente significantes (p ≤ 0,001). Os resultados indicam que o tratamento intensivo com flúor é efetivo na prevenção da perda mineral do esmalte e dentina, mesmo em condições erosivas severas.

A ação protetora do fluoreto sobre a erosão e abrasão dental em esmalte foi estudada por Lagerweij et al. (2006). Trinta e seis espécimes de esmalte bovino foram submetidos a seis desafios erosivos por dia com ácido cítrico 1% de pH 2,3 por 30 s enquanto, durante o resto do dia, ficaram imersos em saliva artificial. Os grupos foram: T0- dentifrício sem flúor, TF- dentifrício com flúor (1250 ppm F), 2F- dentifrício com flúor e 2 aplicações diárias de gel de fluoreto acidulado (12500 ppm F), 8F- dentifrício com flúor e 8 aplicações diárias de gel de fluoreto acidulado (12500 ppm F). Metade dos espécimes de cada grupo foram submetidos à abrasão por escovação com o dentifrício. Após 14 dias de desafio erosivo, sem abrasão ou com abrasão, a aplicação de gel de fluoreto acidulado 2 ou 8 vezes ao dia causou uma significativa menor perda de

esmalte dental em relação ao uso isolado de dentífrico, com ou sem flúor. Concluiu-se que a aplicação de gel de fluoreto altamente concentrado é capaz de proteger o esmalte contra a erosão e abrasão por escovação, enquanto que dentífricos com flúor promovem uma pequena proteção.

O efeito do uso de verniz de flúor na prevenção da perda de estrutura dental por erosão e erosão/abrasão foi avaliada por Vieira et al. (2007). Onze voluntários usaram aparelho contendo amostras de esmalte humano (2 amostras de grupo controle e 2 amostras de grupo tratado com verniz de flúor) por 3 semanas. O verniz de flúor (Fluor Protector, contendo 0,1% de flúor) foi aplicado com microbrush, em uma fina camada, e seco com jato de ar, de acordo com as recomendações do fabricante. A erosão era feita extra oralmente através da imersão do aparelho 3 x 5 min em refrigerante Sprite. Ao final de cada dia, uma das amostras de cada grupo era escovada com dentífrico fluoretado por 5 s. A perda de esmalte dental foi quantificada através de perfilometria óptica após 5, 10 e 15 dias. As amostras tratadas com verniz de flúor, com e sem abrasão, apresentaram perda de volume significativamente menor do que as do grupo controle. Os resultados indicaram que o verniz de flúor é efetivo na redução da perda de estrutura por erosão.

Ganss et al. (2008) estudaram o efeito dos fluoretos de amina, sódio e estanho como agentes anti-erosivos. Amostras de esmalte dental humano foram submetidos a um processo de des-remineralização por 10 dias. A erosão foi realizada com 0,05 M de ácido cítrico (pH 2,3) 6 x 2 min/dia seguida por imersão na solução teste por 6 x 2 min. As soluções teste foram: cloreto de estanho (SnCl_2 , 815 ppm Sn; pH 2,6), NaF (250 ppm F; pH 3,5), fluoreto de amerício (AmF, 250 ppm F; pH 3,5), AmF/NaF (250 ppm F; pH 4,3) e AmF/fluoreto de estanho (AmF/ SnF_2 , 250 ppm F, 390 ppm Sn; pH 4,2). No grupo controle, não se realizou tratamento com flúor. O conteúdo mineral foi monitorado por microradiografia longitudinal e também foi realizada microscopia eletrônica de varredura. A maior perda erosiva de mineral ocorreu no grupo controle ($48,0 \pm 17,1 \mu\text{m}$). A perda mineral foi quase completamente inibida por AmF/ SnF_2 ($5,7 \pm 25,1 \mu\text{m}$; $p \leq 0,001$) e SnF_2 ($-3,8 \pm 14,4 \mu\text{m}$; $p \leq 0,001$). SnCl_2 e NaF também mostraram diminuição significativa da erosão, mas AmF e AmF/NaF não tiveram efeito significativo na redução da erosão.

Concluiu-se que há diferenças consideráveis entre os compostos fluoretados testados, sendo que SnF_2 foi o mais efetivo.

Wiegand et al. (2008b) avaliaram a proteção contra a erosão de esmalte oferecida por diferentes compostos tetrafluoretados: fluoreto de titânio (TiF_4), fluoreto de zircônio (ZrF_4) e fluoreto de háfnio (HfF_4). Trinta e seis superfícies de esmalte de coroas de dentes bovinos foram polidas e cobertas com fita adesiva, deixando 4 janelas de esmalte expostas com 3 mm de diâmetro cada. Cada um dos 6 grupos ($n=6$) sofreram tratamento com um dos seguintes compostos: 4% TiF_4 , 10% TiF_4 , 4% ZrF_4 , 10% ZrF_4 , 4% HfF_4 ou 10% HfF_4 por 4 min (1ª janela), 10 min (2ª janela) ou 15 min (3ª janela). A 4ª janela serviu como superfície controle. A erosão foi feita com HCl 1% (pH 2) em 5 intervalos consecutivos de 15 s cada (tempo total: 75 s). A dissolução do esmalte foi calculada por análise colorimétrica da liberação de fosfato no ácido, sendo que para cada dente foi obtido o percentual liberado de fosfato em relação à superfície controle. Os resultados foram submetidos ao teste ANOVA 2 fatores. Concluíram que TiF_4 , ZrF_4 e HfF_4 protegeram o esmalte contra a erosão, mas esta proteção foi mais acentuada quando se utilizou ZrF_4 e HfF_4 do que quando se utilizou TiF_4 .

Wiegand et al. (2008c) também avaliaram o efeito protetor contra a erosão de diferentes compostos tetrafluoretados à base de titânio, zircônia e háfnio. Foram utilizados espécimes de esmalte e dentina bovinos, com e sem formação de película adquirida, os quais constituíram 8 grupos ($n=20$). Metade dos espécimes de cada grupo foi imersa em saliva humana por 2 h para formação da película adquirida. Os tratamentos foram realizados por 120 s com soluções de TiF_4 , ZrF_4 ou HfF_4 (0,4 ou 1%) ou gel de 1,25% AmF/NaF. Todos os espécimes sofreram erosão com ácido hidrocloreto, pH 2,6, por 25 min. A liberação de cálcio foi monitorada em intervalos consecutivos de 30 s durante os primeiros 5 min, e depois em intervalos de 2 min até o tempo total de 25 min, utilizando-se o método Arsenazo III. Este método baseia-se na análise colorimétrica da liberação de cálcio. Os dados foram analisados por ANOVA. TiF_4 1% apresentou o maior efeito protetor, especialmente na dentina (redução da perda de cálcio em aproximadamente 50%). ZrF_4 1%, HfF_4 1% e TiF_4 0,4% também reduziram a perda de cálcio, mas em menor magnitude. O gel de fluoreto só teve efeito protetor na dentina. A

eficácia dos compostos tetrafluoretados foi influenciada pela presença da película adquirida, sendo que a proteção contra a erosão dentinária por TiF_4 e ZrF_4 foi maior nos espécimes com película adquirida. As soluções tetrafluoretadas, especialmente TiF_4 1%, foram capazes de reduzir a erosão dental, mas foram mais efetivas em dentina do que em esmalte.

Schlueter et al. (2009) investigaram se compostos fluoretados contendo cátions metálicos polivalentes são efetivos contra a progressão de erosão em esmalte humano. As desmineralizações (experimento E1 e E2a: 6 x 2 min/dia, experimento E2b: 6 x 5 min/dia) foram feitas com 0,05 M de ácido cítrico (pH 2,3). O tratamento com flúor foi feito após as desmineralizações e consistiu em E1: 6 x 2 min/dia, E2a e E2b: 2 x 2 min/dia. As soluções testadas foram: fluoreto de zinco - ZnF_2 (E1), $\text{AmF}/\text{NaF}/\text{sulfato de cobre}$ - CuSO_4 (E1), $\text{TiF}_4/\text{AmF}/\text{Zn lactato}$ (E1), TiF_4 (E1,E2a), TiF_4/AmF (E2a), $\text{TiF}_4/\text{AmF}/\text{NaF}$ (E2a), $\text{TiF}_4/\text{AmF}/\text{ZnF}_2$ (E1, E2a, E2b), $\text{AmF}/\text{NaF}/\text{SnCl}_2$ (2,800 mg/l Sn^{+2} ; E1, E2a, E2b), $\text{AmF}/\text{NaF}/\text{SnCl}_2^{-1}$ (700 mg/l Sn^{+2} ; E2a,E2b), todos com 1,500 ppm F^- , pH 4,5, e AmF/SnF_2 (controle positivo, pH 4,2, 250 ppm F^- ; E1, E2a, E2b). O grupo controle negativo não sofreu tratamento com compostos fluoretados. A perda de tecido foi determinada por perfilometria após o último dia: E1-10 dias, E2a- 7 dias, E2b- 7 dias. Em condições experimentais medianas (E1), as soluções contendo estanho e titânio inibiram quase completamente a perda de tecido por erosão (entre 94,2 e 97,5%). Em condições mais severas (E2a, E2b), o titânio perdeu a sua eficácia, sendo que somente a solução mais concentrada de estanho (2,800 mg/l Sn^{+2}) foi capaz de reduzir a perda de tecido em 93,1% (E2b).

Wiegand et al. (2009) analisaram, comparativamente, o efeito protetor do TiF_4 tamponado (pH 3,5) e natural (pH 1,2) em relação a soluções de NaF de mesmo pH na erosão dentinária. Amostras de dentina bovina foram tratadas com TiF_4 1,50% ou soluções de NaF 2,02% (ambos com 0,48 M de F), com pH 1,2 e 3,5 cada. O grupo controle não recebeu tratamento com flúor. Dez amostras de cada grupo foram submetidas a erosão com HCl (pH 2,6) por 10 x 60 s. A erosão foi analisada pela determinação da liberação de cálcio no ácido. Adicionalmente, a composição elementar de superfície e foi examinada por microscopia eletrônica de varredura (duas amostras de cada grupo) e espectroscopia de dispersão de raio X nas amostras tratadas com flúor e não

submetidas a erosão (seis amostras em cada grupo). O cálcio acumulado liberado (nmol/mm^2) foi analisado estatisticamente por ANOVA de medidas repetidas e ANOVA 1 fator em $t = 10$ min. Os resultados mostraram que as substâncias em pH 1,2 reduziram significativamente a perda de cálcio, enquanto em pH 3,5, não foram efetivas. TiF_4 em pH 1,2 gerou aumento significativo de Ti e NaF pH 1,2 causou aumento significativo de F. Em pH 1,2, TiF_4 causou a formação de precipitados globulares que ocluíram os túbulos dentinários, o que não pode ser observado quando se utilizou TiF_4 em pH 3,5. NaF pH 1,2, mas não de pH 3,5, também causou formação de precipitados na superfície ocluindo os túbulos dentinários. Concluíram que a erosão em dentina pode ser significativamente reduzida com TiF_4 e NaF de pH 1,2, mas não com pH 3,5.

Austin et al. (2010) investigaram o efeito de uma solução aquosa de fluoreto de sódio de concentrações crescentes na erosão e atrição do esmalte e dentina bovinos in vitro. Foram utilizados 100 espécimes de esmalte e dentina obtidos a partir de terceiros molares humanos hígidos, os quais foram incluídos em resina acrílica e polidos com lixas de carbureto de silicone 500, 1200, 2400 e 4000. Duas tiras de fita adesiva foram posicionadas perifericamente deixando uma exposição central de esmalte ou dentina de 3 mm x 3 mm para que se tivesse superfícies de referência dos dois lados da superfície tratada. Os espécimes foram divididos em 5 grupos para cada tipo de substrato: G1- controle, água destilada; G2- 225 ppm NaF; G3- 1450 ppm NaF; G4- 5000 ppm NaF; G5- 19000 ppm NaF. Todos os espécimes foram submetidos a 5, 10 e 15 ciclos de envelhecimento artificial [1 ciclo= saliva artificial (2 h, pH 7,0) + erosão (ácido cítrico 0,3%; 2,5 min; pH 3,2) + flúor/controlado (5 min) + atrição (60 impactos lineares em saliva artificial contra esmalte e carga de 300 g)]. As fitas adesivas foram removidas previamente à realização da perfilometria. Os resultados evidenciaram que as soluções de fluoreto de sódio de 5000 ppm e 19000 ppm protegeram o esmalte contra a erosão e atrição in vitro, mas nenhum outro grupo mostrou diferença significativa. Concluiu-se que quanto mais intensivo for o regime de aplicação de flúor, maior a proteção oferecida ao esmalte quanto à erosão e atrição. No entanto, neste estudo, esta proteção não foi conferida à dentina.

Magalhães AC et al. (2010) avaliaram o efeito do TiF_4 , vernizes de fluoreto de sódio e soluções de fluoreto de sódio na proteção contra a erosão dentinária. Amostras de dentina radicular bovina foram tratadas com verniz NaF-Duraphat (2,26%F, pH 4,5), verniz NaF/ CaF_2 -Duofluorid (5,63%F, pH 8,0), verniz experimental NaF (2,45%F, pH 4,5), verniz experimental TiF_4 (2,45%F, pH 4,5), solução NaF (2,26%F, pH 4,5), solução TiF_4 (2,45%F, pH 1,2), e verniz placebo (não-F, pH 5,0, controle). Dez amostras de cada grupo foram submetidas a 5 dias de desmineralização erosiva (Sprite Zero, 4 x 90 s/dia) e remineralização (saliva artificial, entre os ciclos erosivos). A perda dentinária foi medida através de perfilometria após o tratamento e após 1, 3 e 5 dias de des-remineralização. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA 2 fatores e teste *post hoc* de Bonferroni (5%). Após o tratamento, a solução de TiF_4 induziu a perda significativa de estrutura dentinária. Somente Duraphat reduziu a perda dentinária ao longo do tempo, mas não diferiu significativamente do placebo (no 3º e 5º dias) e do verniz de TiF_4 (no 3º dia). Concluíram que o verniz Duraphat parece ser a melhor opção para reduzir parcialmente a erosão dentinária. No entanto, a manutenção dos efeitos do tratamento após sucessivos desafios erosivos é limitada.

2.3 Ação de lasers sobre a dentina

Magalhães MF et al. (2004) realizaram estudo *in vitro* para verificar a eficácia do laser Nd:YAG pulsado com 1064 nm no selamento de túbulos dentinários. Vinte dentes humanos hígidos tiveram o cimento cervical removido para que houvesse exposição de aproximadamente 4 mm² de dentina da face vestibular. As faces linguais serviram como controle e não foram irradiadas com laser. Os parâmetros do laser foram: 30 mJ, 0,3 W (Grupo A) e 40 mJ, 0,4 W (Grupo B). A frequência de 7 Hz foi igual para os dois grupos e o tempo de aplicação foi de 43 s, no total de 2 aplicações com 10 s de intervalo entre uma e outra. 10 amostras foram avaliadas por MEV e, as outras 10, foram fraturadas longitudinalmente antes da realização do MEV, para se

avaliar a penetração do laser na dentina. A obliteração dos túbulos dentinários abertos e a solidificação da superfície dentinária ocorreu nos dois grupos, A e B. A penetração do laser na dentina (MEV) variou de 1 a 7 μm , dependendo dos parâmetros utilizados. Concluiu-se que o uso de laser de Nd:YAG foi efetivo para selar túbulos dentinários abertos.

Hsu et al. (2006) estudaram a ação combinada de dessensibilizantes dentinários contendo fluoreto e do laser de Nd:YAG (33 mJ, 50 pulsos/s, durante 2 min, modo contato) sobre os túbulos dentinários de dentes humanos. Todos os seis grupos (A-F) receberam aplicação do dessensibilizante, inclusive os grupos controle. Os grupos B, D e F receberam também a irradiação com laser de Nd:YAG. Os grupos A e B funcionaram como controle para permitir a observação dos efeitos oclusivos nos túbulos dentinários, antes e após a irradiação com o laser. Os grupos C e D foram tratados com solução de vitamina C 0,5 M (pH 3,5 por 1, 2 e 3 h, respectivamente), enquanto que os grupos E e F foram submetidos à escovação com escova elétrica (1200 e 3600 vezes). A análise em MEV revelou que o dessensibilizante formou uma camada cristalina fina sobre a superfície dentinária. Após a imersão na solução ácida por 3 h, o depósito cristalino foi completamente removido. Além disso, a escovação realizada por 3600 vezes removeu a maioria da camada oclusiva. Quando se combinou o dessensibilizante com a irradiação com laser, a dentina sofreu *melting* e se recristalizou. O agente oclusivo foi aquecido e levado para o interior dos túbulos, o que impediu a sua dissolução tanto pela solução de vitamina C como pela escovação. Assim, concluiu-se que o laser é capaz de “queimar” a camada cristalina formada pelo dessensibilizante, a qual penetra nos túbulos, ficando resistente à dieta ácida e à escovação, resultando em aumento da durabilidade do efeito do dessensibilizante.

Naylor et al. (2006) realizaram um estudo em que expuseram superfícies dentinárias a bebidas ácidas, antes e depois do tratamento com laser Nd:YAG. Utilizaram sessenta e oito amostras de dentina, as quais foram divididas em cinco grupos: G1, controle (n=4); G2, 3 h de imersão (n=16), G3, 3 h de imersão + laser Nd:YAG; G4, 3 h de imersão + laser Nd:YAG + 3 h de imersão; G5, 3 h de imersão + laser Nd:YAG + 6 h de imersão. Cada grupo foi subdividido em quatro subgrupos (n=4), de acordo com as bebidas utilizadas:

suco de limão, suco de maracujá, cola e vinho tinto. A irradiação com laser Nd:YAG foi feita no modo contato, perpendicular à superfície, com fibra de quartzo de 300 µm de diâmetro, com movimentos de varredura por 60 s com 10 s de intervalo e com os parâmetros 0,6 W, 10 Hz, 60 mJ e 85 mJ/cm². Cada subgrupo foi analisado por MEV. Os resultados mostraram que todas as bebidas ácidas contribuíram para a exposição e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários. Concluiu-se que a irradiação com laser Nd:YAG produziu obliteração e redução do número dos túbulos dentinários abertos.

Birang et al. (2007) avaliaram comparativamente o efeito do laser de Nd:YAG e Er:YAG sobre a dessensibilização de dentes humanos. Um grupo de nove pacientes com um total de 63 dentes com hipersensibilidade crônica foram selecionados e divididos em três grupos: Grupo 1- Nd:YAG laser (1 W, 15 Hz, 60 s, 2 vezes), Grupo 2- laser de Er:YAG (100 mJ, 3 Hz, 60 s, 2 vezes) e Grupo 3- controle (sem tratamento). A magnitude da dor foi obtida através da escala visual analógica (VAS) após a estimulação do dente com a ponta fina de um explorador. Este teste foi realizado antes do tratamento, imediatamente após e após 1, 3 e 6 meses. Imediatamente após o tratamento, não houve diferença significativa entre os grupos ($p= 0,506$). No entanto, quando se comparou o período antes do tratamento com todos os outros pós-tratamento, houve diferença estatística ($p < 0,0005$). Ambos os tipos de laser apresentaram efeito terapêutico aceitável, que pareceu durar até 6 meses, mas o laser de Nd:YAG foi mais efetivo na redução da dor dos pacientes.

Castellan et al. (2007) avaliaram a influência dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG na desmineralização do esmalte de dentes decíduos. Quarenta amostras de esmalte foram obtidas de 22 primeiros molares decíduos e foram divididos em quatro grupos ($n=10$): G1- controle negativo, sem tratamento; G2- controle positivo, flúor fosfato acidulado; G3- laser Er:YAG (2 Hz, 60 mJ, 40,3 mJ/cm²); G4- laser Nd:YAG (10 Hz, 80 mJ, 0,8 W, 99,5 mJ/cm², com contato). Após os tratamentos de superfície, as amostras foram submetidas a desafio ácido, que consistia na imersão em solução desmineralizante (3 h, pH 4,6) e remineralizante (21 h, pH 7,0) por 5 dias. Após, realizou-se teste de microdureza e ANOVA e teste Student Newman Keuls (5%) para a análise estatística. A dureza Knoop foi convertida para porcentagem de volume mineral e perda relativa de mineral. As porcentagens

de inibição da lesão foram: G2 (59,4%), G3 (35,7%) e G4 (40,4%). Em relação à perda de volume mineral, não houve diferença estatística entre os grupos G2 e G3 quando comparados ao G1. Todos os grupos experimentais apresentaram menor perda mineral quando comparados às amostras não irradiadas. A conclusão foi de que os lasers Er:YAG e Nd:YAG podem ser uma ferramenta alternativa para aumentar a resistência ácida do esmalte decíduo.

Zapletalová et al. (2007) estudaram as condições ideais para o selamento de túbulos dentinários com a utilização de laser de Nd:YAG pulsado (15 Hz, 30 a 250 mJ, 22 a 275 J/cm²). Cento e nove amostras de dentina radicular resultantes de terceiros molares humanos foram preparadas. Para aumentar a absorção do laser foram utilizados quatro corantes: tartrazina 7%, indigo carmine 5%, azul de metileno 5% e eritrosina 5, 10 e 15%. As superfícies foram analisadas por MEV. Constatou-se que o selamento dos túbulos dentinários pode ser obtido mesmo sem o uso de corantes, basta que seja utilizada uma intensidade suficiente do laser. Para evitar danos à superfície dentinária, o uso de corantes faz-se necessário. Eritrosina mostrou ser o melhor corante. Concluiu-se que o selamento dos túbulos dentinários pode ser seguramente e efetivamente obtido com o uso de laser de Nd:YAG pulsado e solução de eritrosina sobre a superfície.

Kivanç et al. (2008) observaram as mudanças morfológicas na dentina radicular após tratamento com laser de Nd:YAG e Er:YAG. Vinte e uma raízes foram preparadas biomecanicamente com limas endodônticas e divididas em três grupos: controle, laser de Er:YAG (Key Laser 3, Kavo, 1,8 W, 120 mJ, 15 Hz, 381 J/cm², 20 s) e laser de Nd:YAG (mesmos parâmetros, aplicação por 10 s e pausa por 15 s, sendo que este processo foi repetido 4 vezes, totalizando 40 s). As raízes foram cortadas longitudinalmente e examinadas em MEV e notou-se que não houve remoção de debris e *smear layer*. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Ipci et al. (2009) compararam a eficácia dos lasers de CO₂ e Nd:YAG isoladamente e em combinação com o gel de fluoreto de sódio tópico 2% no tratamento da hipersensibilidade. Um grupo de 50 pacientes, com um total de 420 dentes apresentando hipersensibilidade, foram divididos em cinco grupos. Grupo 1: NaF 2%; Grupos 2: laser CO₂ (1 W, modo contínuo, 10 s); Grupo 3: laser Er:YAG (30 Hz, 60 mJ, sem spray ar/água); Grupo 4: laser CO₂

+ NaF; Grupo 5: laser Er:YAG + NaF. O gel de NaF foi utilizado por 4 min. A velocidade de aplicação do laser foi de 0,8 mm/s. O grau de sensibilidade térmica foi determinado com estímulo de jato de ar frio por 1 s a uma distância de 2 mm da superfície dental. A quantificação do grau de desconforto foi feita com a escala de dor de quatro pontos, antes do tratamento e após 1 semana, 1 mês e 6 meses. Os resultados evidenciaram melhora significativa do grau de desconforto em todos os grupos. Em todos os períodos analisados, os escores de dor com o jato de ar frio reduziram significativamente quando comparados aos escores iniciais, antes do tratamento, exceto para o Grupo 1 (NaF). Neste grupo, houve aumento significativo do grau de desconforto aos 6 meses, quando comparado ao grau obtido com 1 semana ($p < 0,01$) e com 1 mês ($p < 0,001$). Os outros tratamentos foram mais efetivos do que o uso de NaF isoladamente ($p < 0,001$). Concluíram que os lasers de CO₂ e Er:YAG têm potencial promissor no tratamento da hipersensibilidade, sendo que a sua combinação com o NaF parece ser mais eficaz ainda.

Em virtude da escassez de trabalhos científicos que mostrem a associação entre a ação combinada do uso do laser de Nd:YAG e a aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA) no aumento da resistência do esmalte, *in vivo*, Zezell et al. (2009) realizaram o seguinte estudo. 121 dentes de 33 voluntários foram selecionados, sendo que, no lado direito, foi feita a aplicação de laser Nd:YAG + FFA e, o lado esquerdo serviu como controle, recebendo apenas a aplicação de FFA. Os parâmetros do laser de Nd:YAG foram 60 mJ/pulso, 10 Hz e 84,9 J/cm² e o FFA foi aplicado por 4 min. A superfície dental escolhida para a realização destes procedimentos foi a oclusal. Foi pedido para que os pacientes retornassem após 1 ano para se fazer o acompanhamento do aparecimento de manchas brancas ou cavidades de cárie. Após este período, houve redução de 39,2% na incidência de cárie do grupo tratado. Assim, concluiu-se que o efeito combinado do laser de Nd:YAG + FFA foi efetivo para a redução de cáries *in vivo*.

2.4 Combinação de lasers com fluoretos versus erosão dental

Vlacic et al. (2007a) realizaram outro estudo semelhante ao anterior para avaliar a eficácia do tratamento de fluoreto ativado com laser na prevenção contra a dissolução ácida do esmalte humano submetidos a desafio cariogênico. Foram utilizadas as superfícies linguais e vestibulares de molares e pré-molares hígidos extraídos para preparar amostras pareadas de esmalte (n=10), as quais foram polidas com lixa de silicone 1200. Metade da superfície de cada amostra foi pintada com esmalte de unha e depois coberta com um selante opaco para prevenir a exposição ao laser. As superfícies testes sofreram a aplicação de 100 µl de gel de fluoreto de sódio neutro 1,23%, seguida da ativação imediata por laser (532, 633, 670, 830 ou 1064 nm, densidade de energia de 15 J/cm² e extremidade da ponta de 5 mm). Um dos lasers utilizados foi o de Nd:YAG (1064 nm, 30mW, 10s, 153 mW/cm²). Os outros foram: laser de KTP (frequência dobrada de Nd:YAG), laser de diodo InGaAsP, InGaAs e GaAs. Após o tratamento com laser, as superfícies foram lavadas com água deionizada. O desafio cariogênico foi realizado através da imersão dos espécimes em solução tampão de acetato desmineralizadora por 7 dias. A microdureza Vickers das superfícies teste e controle foi medida antes e depois da aplicação do laser e após o desafio cariogênico. Todos os comprimentos de onda de laser utilizados foram efetivos, pois causaram efeito protetor nas superfícies irradiadas, especialmente o laser Nd:YAG, aumentando a microdureza do esmalte.

Vlacic et al. (2007b) estudaram a eficácia do tratamento de fluoreto ativado com laser na prevenção contra a erosão de esmalte. Foram utilizadas as superfícies linguais e vestibulares de molares e pré-molares hígidos extraídos para preparar amostras pareadas de esmalte (n=10), as quais foram polidas com lixa de silicone 1200. Metade da superfície de cada amostra foi pintada com esmalte de unha e depois coberta com um selante opaco para prevenir a exposição ao laser. As superfícies testes sofreram a aplicação de 100 µl de gel de fluoreto de sódio neutro 1,23%, seguida da ativação imediata por laser (488, 514,5, 532, 633, 670, 830 ou 1064 nm, densidade de energia de 15 J/cm² e extremidade da ponta de 5 mm). Um dos lasers utilizados foi o de Nd:YAG (1064 nm, 30mW, 10s, 153 mW/cm²). Os outros foram: laser de argônio, laser de diodo InGaAsP, InGaAs e GaAs. Após

o tratamento com laser, o gel de fluoreto de sódio foi removido com água deionizada, o esmalte de unha da superfície controle foi removido com acetona e ambas as superfícies foram novamente lavadas com água deionizada. As superfícies foram submetidas a um desafio ácido (ácido hidrocloreto 1,0 M por 5 min) para promover erosão/corrosão da superfície suficiente para amolecer o esmalte desprotegido. A microdureza Vickers foi medida antes da aplicação de flúor e depois do desafio ácido nas superfícies teste e controle. Todos os comprimentos de onda de laser utilizados causaram efeito protetor contra a erosão quando comparados com a superfície controle.

Magalhães AC et al. (2008b) avaliaram o efeito de dois agentes fluoretados e da irradiação com laser Nd:YAG, separadamente e em combinação, na resistência da dentina à erosão. Oitenta amostras de dentina bovina (4 x 4 mm) foram divididas aleatoriamente em oito grupos: G1- controle; G2- gel de flúor fosfato acidulado (FFA 1,23%, pH 3,5) por 4 min; G3- verniz de flúor (NaF 2,26%, pH 4,5) por 6 h; G4- laser Nd:YAG 0,5 W (250 μ s pulso, 10 Hz, 35 J/cm², 30 s); G5- laser Nd:YAG 0,75 W (52,5 J/cm²); G6- laser Nd:YAG 1 W (70 J/cm²); G7- FFA + laser Nd:YAG 0,75 W; G8- NaF + laser Nd:YAG 0,75 W. Após os tratamentos, metade da superfície dentinária foi protegida com esmalte de unha. As amostras foram armazenadas em saliva artificial (30 mL/amostra) por 24 h e submetidas a quatro ciclos de 1 min de desafios erosivos (Sprite Light; pH 2,87). Entre os ciclos, as amostras foram mantidas em saliva artificial por 59 min. O desgaste por erosão foi avaliado por perfilometria e antes disso, o esmalte de unha foi removido por cotonete embebido em acetona. As médias de desgaste foram: G1: 1,20 \pm 0,20; G2: 0,47 \pm 0,06; G3: 0,81 \pm 0,11; G4: 1,47 \pm 0,32; G5: 1,52 \pm 0,24; G6: 1,49 \pm 0,30; G7: 0,49 \pm 0,11; G8: 1,06 \pm 0,31. Somente G2, G3 e G7 apresentaram menor desgaste significativo em relação ao controle. Concluiu-se que a irradiação por laser foi incapaz de reduzir a erosão dentinária, ao contrário da aplicação de flúor, que aumentou a resistência à erosão dentinária. FFA apresentou melhores resultados do que o verniz de flúor, provavelmente devido aos diferentes pHs.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a influência do laser de Nd:YAG, do verniz de fluoreto de sódio 5% e da associação de ambos na perda de estrutura dentinária após 5 dias de desafio erosivo e após 7 dias de armazenamento em saliva artificial através de perfilometria. Para complementação e ilustração, realizou-se Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raio-x (EDS) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Preparo dos espécimes para perfilometria

Este projeto de pesquisa foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos (Anexo A).

Foram utilizados sessenta e cinco dentes incisivos bovinos hígidos e recém extraídos, os quais tiveram suas raízes removidas por secção transversal ao longo eixo do dente (Figura 1A), realizada em torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, SP, Brazil). Foi realizada remoção do tecido pulpar com limas endodônticas e irrigação com soro fisiológico. Desses dentes, sessenta foram utilizados para a análise de perfilometria em rugosímetro e, os outros cinco, para as análises de EDS e MEV.

Os blocos de dentina foram obtidos a partir da remoção total da camada de esmalte em politriz (Struers, Ballerup, Dinamarca), sob refrigeração, com lixa d' água de carbureto de silício de granulação 80 até que a dentina fosse exposta (Figura 1B). Foi feita padronização do tamanho da região cervical da coroa em 7 mm de altura x 5 mm de largura através de demarcação com régua e lápis (Figura 1C), seguido de desgaste em recortador de gesso. Os blocos de dentina padronizados (Figura 1D) foram incluídos em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Clássico, São Paulo, SP, Brasil) através de matriz de silicone (Silibor, Clássico, São Paulo, SP, Brasil), de forma que apenas a superfície vestibular de dentina ficou exposta (Figura 1E). Durante a inclusão e polimento, o topo e base dos espécimes foram mantidos paralelos entre si.

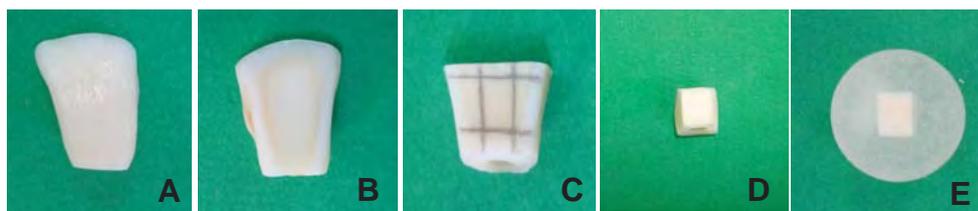


Figura 1- Passo-a-passo da obtenção das amostras de dentina bovina. A) coroa do dente bovino após remoção da raiz; B) exposição da dentina vestibular através de desgaste em politriz; C) demarcação com régua e lápis para padronização do tamanho; D) bloco de dentina de 7 mm x 5 mm; E) bloco de dentina incluído em resina acrílica autopolimerizável com superfície dentinária exposta.

Em seguida, foi feito polimento da superfície em politriz com lixas de carbureto de silício e silicone de granulação decrescente de 500 a 4000 (Struers, Ballerup, Dinamarca) (Wiegand et al., 2008b) até que a superfície apresentasse aspecto vítreo. Após o último polimento, os espécimes foram limpos em aparelho de ultra-som (modelo 1440D, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 10 min, com água deionizada, a fim de impedir a interferência de grãos na lisura de superfície.

Para maior padronização dos espécimes, foi feita a análise de microdureza Knoop da superfície (3 indentações, 10 g, 5 s), obtendo-se uma média das 3 indentações para cada espécime (Apêndice A). Isso permitiu a seleção apenas daqueles que apresentassem valores semelhantes de microdureza. Assim, as amostras que apresentaram valores discrepantes da média, ou seja, que não estavam no intervalo média \pm desvio-padrão, foram descartadas, o que implicou na necessidade de mais de 60 dentes bovinos até esta etapa.

Os espécimes foram armazenados em água destilada a 4°C, trocada 1 vez por semana, até o momento de sua utilização, não excedendo o período de 6 meses (ISO 11405).

4.2 Tratamentos de superfície

Metade da superfície de cada amostra foi protegida com fita teflon para seladora (VH Essence Dental, modelo Goldline, Araraquara, São Paulo, Brasil), a qual bloqueia a passagem do laser, antes de se iniciarem os tratamentos de superfície (Figura 2). Além disso, esta fita também teve a função de manter metade da superfície de cada amostra como uma superfície de referência para a posterior avaliação por perfilometria, uma vez que a superfície protegida foi mantida hígida, já que não sofreu nenhum tipo de tratamento, nem mesmo o desafio de erosão.

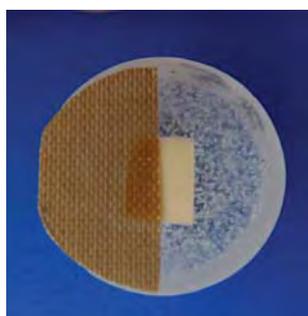


Figura 2- Dente bovino incluído em resina acrílica, com superfície dentinária exposta e protegida com a fita de teflon para seladora.

Os espécimes foram divididos, aleatoriamente, em 5 grupos (n=12), de acordo com o tipo de tratamento de superfície que foi realizado previamente ao desafio de erosão:

Grupo C- nenhum tratamento (controle);

Grupo F- verniz de NaF 5% por 6 h;

Grupo L- laser Nd:YAG;

Grupo LF- laser Nd:YAG + verniz NaF 5% por 6 h;

Grupo FL- verniz NaF 5% por 6 h + laser Nd:YAG.

O laser de Nd:YAG (comprimento de onda 1,064 μm , Pulse Master 600 IQ, American Dental Technologies, USA) (Figura 3A) foi utilizado no modo não contato, a 1 mm de distância e perpendicularmente à superfície

dentinária, com fibra óptica de 320 μm de diâmetro (Figura 3B). Os parâmetros utilizados foram: 1 W, 100 mJ, 10 Hz, 124, 37 J/cm^2 por 30 s. A irradiação foi feita manualmente, com movimentos de varredura uniformes e lentos, de uma extremidade da superfície à outra, até que toda a superfície fosse irradiada (Figura 3C).

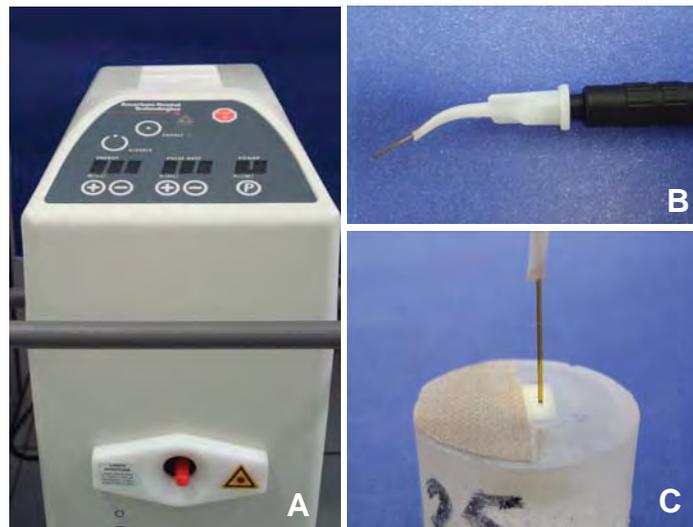


Figura 3- Laser Nd:YAG e sua aplicação. A) Aparelho de laser Nd:YAG utilizado. B) ponta de fibra óptica do laser Nd:YAG; C) aplicação do laser sobre a superfície dentinária.

O verniz de flúor Duraphat (Colgate, Brazil, 2,26% F livre, pH= 4,5) foi aplicado em uma única e fina camada com auxílio de microbrush (Figura 4) e, após 30 min para sua secagem, os espécimes foram colocados em saliva artificial por 6 h (Magalhães AC et al., 2008b; Magalhães AC et al., 2010; Souza et al., 2010). Em todos os grupos que utilizaram verniz de flúor, este foi removido com cotonete e acetona (Attin et al., 2000; Vlacic et al. 2007b, Magalhães AC et al., 2008b; Magalhães AC et al., 2010) após a permanência dos espécimes por 6 h em saliva artificial. No grupo FL, o laser foi aplicado sobre a superfície dentinária imediatamente após a remoção do verniz de flúor.



Figura 4- Aplicação da fina camada de verniz de flúor com microbrush sobre a superfície dentinária.

4.3 Desafio de erosão e perfilometria

Antes do início do desafio erosivo, os espécimes de todos os grupos ficaram imersos em 12 mL/amostra de saliva artificial (pH = 6,8; Quadro 1)(Gohring et al., 2004) por 24 h para simular parcialmente as condições *in vivo*. O desafio de erosão foi realizado por 5 dias através da imersão dos espécimes em ácido cítrico 0,05 M (pH= 2,4; 12 mL/amostra), 2 vezes ao dia, durante 15 min, e intervalo de 1 hora entre as imersões. Em cada dia, entre uma imersão em ácido e outra, os espécimes eram lavados em água corrente, cuidadosamente secos com papel absorvente, sem esfregar, e imersos em saliva artificial. Assim, nos intervalos entre as imersões em ácido e durante a noite, os espécimes ficaram imersos em saliva artificial, trocada diariamente (Figura 5). Todas as imersões foram realizadas de forma estática e à temperatura ambiente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$).

Quadro 1 - Composição da saliva artificial

Quantidade	Produto químico
4,8 g	cloreto de potássio (KCl)
3,4 g	cloreto de sódio (NaCl)
0,2 g	cloreto de magnésio hexahidratado ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)
0,4 g	cloreto de cálcio dihidratado ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)
0,4 g	tiocianato de potássio (KSCN)
1,4 g	fosfato de potássio monobásico anidro (H_2KPO_4)
0,2 g	ácido bórico (H_3BO_3)

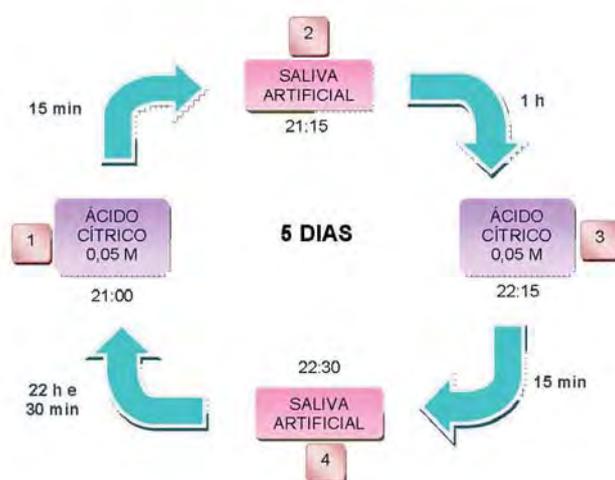


Figura 5- Esquema diário do desafio erosivo.

A avaliação da perfilometria foi realizada em três etapas, no mesmo espécime:

Etapa 1 - logo após o tratamento de superfície;

Etapa 2 - após 5 dias de desafio erosivo;

Etapa 3 - após 5 dias de desafio erosivo + 7 dias de armazenamento em saliva artificial trocada diariamente.

Para a avaliação perfilométrica da etapa 1, metade da fita para seladora foi removida com o auxílio de lâmina de bisturi (Figura 6A). O restante da fita foi removido na etapa 2 (Figura 6C) e, as leituras de perfilometria da Etapa 3 foram realizadas na mesma região das da etapa 2. Foram realizadas

três leituras de perfilometria em cada etapa para cada amostra através de rugosímetro (Mitutoyo SJ 400, Tóquio, Japão) (Figura 6B, 6D, 7), da superfície de referência para a superfície que sofreu o tratamento de superfície/erosão. A perda de estrutura correspondeu à medida (em μm) do ponto mais inferior do gráfico em relação à superfície referencial (Figura 8), utilizando-se um recurso do próprio programa de computador. Em cada etapa, foi calculada a média das três leituras para cada amostra. Durante as leituras, a superfície dentinária foi mantida úmida com saliva artificial para que não houvesse distorção dos resultados devido ao ressecamento da mesma.

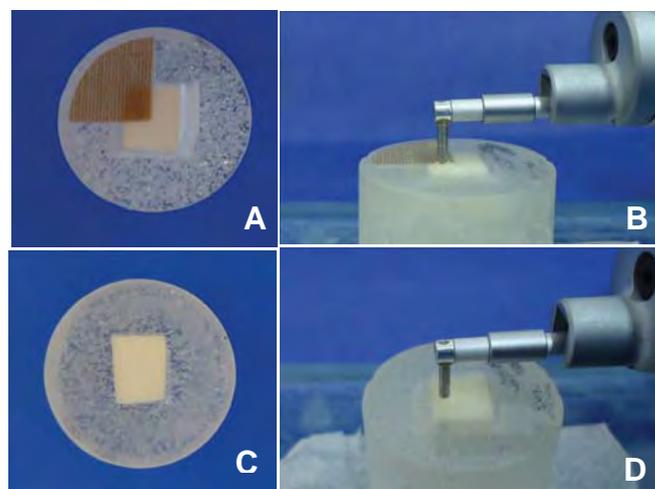


Figura 6- Forma de remoção da fita para seladora e perfilometria em rugosímetro em cada etapa. A) Remoção de metade da fita para a perfilometria da Etapa 1. B) Perfilometria Etapa 1; C) Remoção do restante da fita para a perfilometria da Etapa 2; D) Perfilometria Etapa 2 e 3.



Figura 7- Rugosímetro.

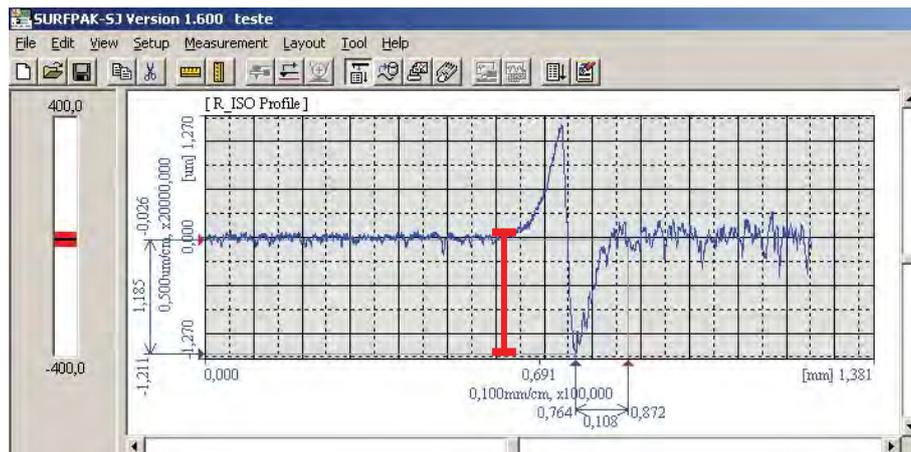


Figura 8- Exemplo de gráfico originado pela análise de perfilometria no rugosímetro. Em vermelho está demonstrada a medida, em μm , da perda de estrutura dentinária.

A etapa 1 teve o objetivo apenas de determinar a perda de estrutura dental causada pelo próprio tratamento de superfície, uma vez que a superfície referencial para análise perfilométrica das etapas B e C tinha que ser lisa e polida para que se determinasse o “degrau” claramente. Em estudo piloto, tentou-se realizar o tratamento de superfície na própria superfície referencial, mas as irregularidades criadas pelo laser impediam a definição do “degrau”.

4.4 Preparo dos espécimes para EDS e MEV

Para esta fase do estudo, foram utilizados 5 dentes bovinos dos quais foram obtidas 5 fatias de dentina, cada qual correspondente a um grupo: C, F, L, LF e FL. A forma de obtenção das fatias está demonstrada na Figura 9.

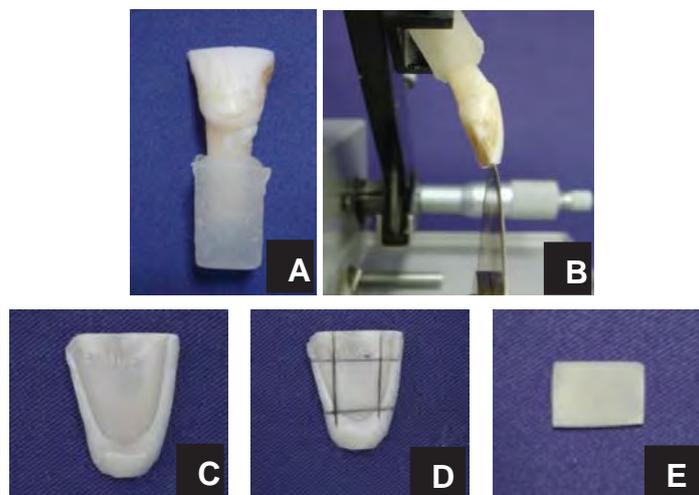


Figura 9- Esquema da obtenção da fatia de dentina. A) Dente bovino incluído em resina acrílica quimicamente ativada; B) Corte longitudinal no sentido méso distal para remover esmalte vestibular; C) Fatia de dentina, D) Fatia de dentina demarcada, E) Fatia de dentina após recorte com broca de alta rotação.

A superfície da fatia de dentina foi polida manualmente com lixas de carbureto de silício e silicone de granulação decrescente de 500 a 4000 (Struers, Ballerup, Dinamarca) (Wiegand et al., 2008b) até que a superfície apresentasse aspecto vítreo. A padronização do tamanho das fatias e da microdureza Knoop seguiu o mesmo padrão utilizado no item 4.1.

Cada fatia de dentina foi dividida em 4 amostras, com auxílio de contra-ângulo (Kavo, Joinville, Santa Catarina, Brasil) e disco de carborundum, totalizando-se 20 amostras. As 4 amostras de cada dente foram designadas com os algarismos 0, 1, 2 e 3, que correspondiam às etapas de avaliação abaixo, que foram analisadas por EDS e MEV para cada tipo de Tratamento de superfície:

0 – dentina hígida;

1 – após tratamento superficial;

2 – após desafio erosivo por 5 dias;

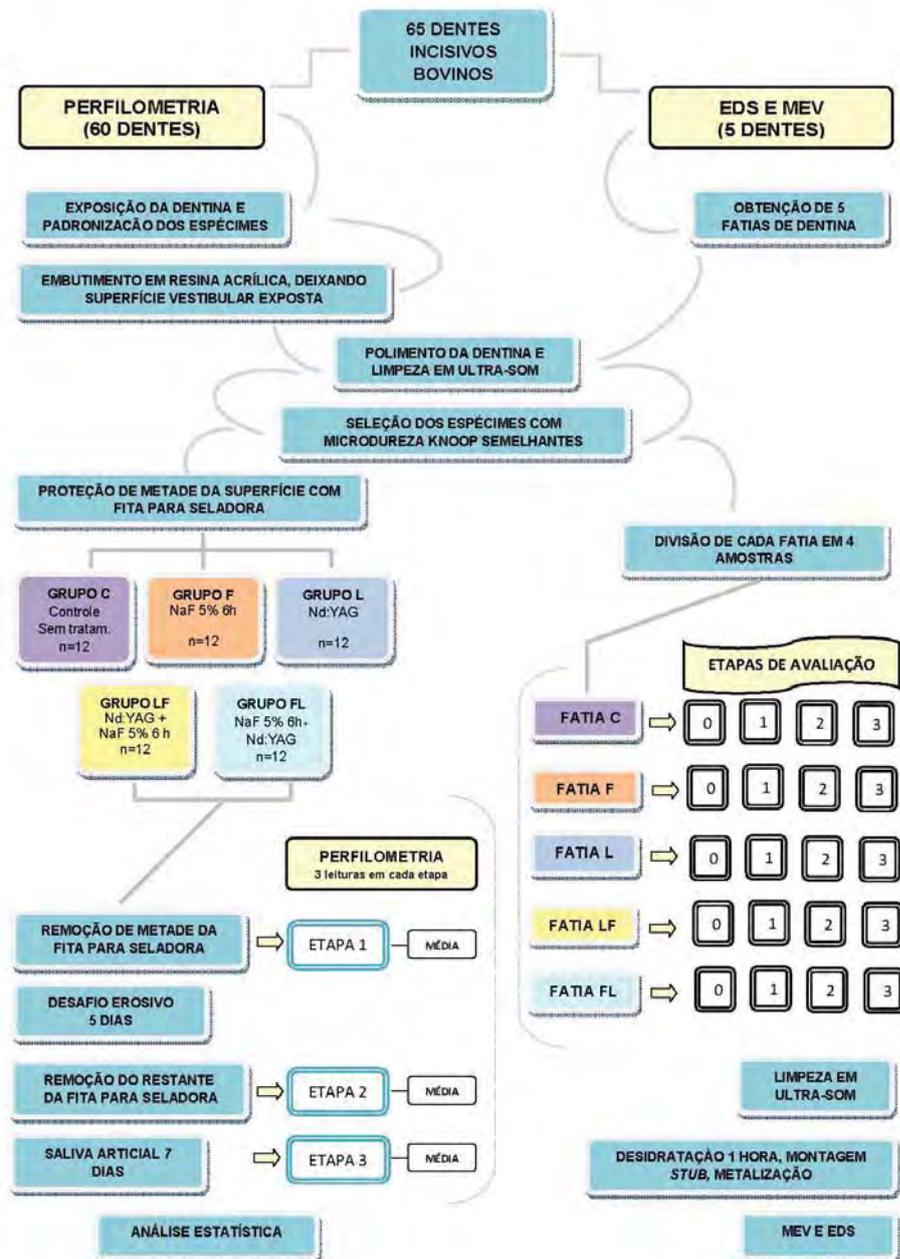
3 – após 5 dias de desafio erosivo + 7 dias de armazenamento

em saliva artificial trocada diariamente.

Dessa forma, a análise em MEV e EDS seguiu o mesmo padrão das etapas avaliadas por perfilometria sendo que, para cada tratamento de superfície, as amostras foram provenientes da mesma fatia de dentina bovina, evitando variação do padrão de composição do dente nas diferentes etapas de avaliação, o que poderia influenciar os resultados obtidos. A etapa 0 serviu para se ter referência da quantidade de cálcio e fósforo da dentina hígida de cada dente.

Previamente à análise em MEV e EDS, as amostras foram limpas em aparelho de ultra-som (modelo 1440D, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 10 min, com água deionizada. A desidratação das mesmas foi realizada deixando-as sobre filtro de papel em recipiente de vidro fechado, para evitar contaminação superficial por impurezas do ar, durante 1 h. As amostras foram montadas em um *stub* de alumínio e submetidas à metalização por ouro através de um processo de pulverização a vácuo utilizando-se o aparelho Desk II (Denton Vacuum, Moorestown, NJ, U.S.A.), por 2 min. Em seguida, foi realizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (JEOL modelo JSM 5310 Thermo Corporation, Tokyo, Japão), da qual se obtiveram imagens ilustrativas, e a Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raio-x, em aparelho acoplado ao mesmo microscópio, a qual permitiu a quantificação do cálcio e fósforo presentes nas amostras em cada etapa de avaliação.

4.5 Delineamento Experimental



4.6 Planejamento experimental e Análise estatística

4.6.1 Dados de Perfilometria

Foram obtidos 108 dados de perda de estrutura dentinária para cada grupo (n=12), em micrometros, correspondentes às 3 etapas de avaliação (1, 2 e 3) de cada espécime. Dessa forma, para os 5 tratamentos de superfície, o total de medições realizadas no rugosímetro foi de 540.

Após a obtenção das médias de cada etapa de avaliação, foi necessário subtrair do valor médio obtido nas Etapas 2 e 3, o valor médio obtido na Etapa 1. Dessa forma, obteve-se o valor representativo da real perda de estrutura dentinária das Etapas 2 e 3, sendo que estes dados foram analisados estatisticamente.

Os valores obtidos na Etapa 1 foram apresentados na forma de gráfico apenas para facilitar a visualização.

Os dados referentes às etapas 2 e 3 seguiram um esquema fatorial do tipo 5 x 2, sendo que as variáveis experimentais ou fatores em estudo foram os Tratamentos de superfície (C, F, L, LF, FL) e as Etapas (2 e 3). Obtiveram-se 120 dados (ou seja, dez condições experimentais sob doze repetições). A variável resposta foi o valor de perda superficial de estrutura dentinária (em μm) obtido através da análise no rugosímetro. A unidade experimental foi a superfície de dentina.

A hipótese de nulidade testada foi a de que a perda de estrutura dentária por erosão não difere entre os diversos tratamentos de superfície.

Foi realizada a estatística descritiva para cálculo de médias e desvios padrão, bem como a estatística inferencial, que consistiu no teste de análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) dois fatores (Tratamentos de superfície e Etapas), onde a variável Etapa foi considerada como o fator repetido. O estudo do efeito interação foi visualizado por meio do gráfico de médias.

O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5% e os programas computacionais utilizados foram: MINITAB (Minitab, version 15.1, 2007), STATISTIX (Analytical Software, version 8, 2005) e Prism (Graph Pad, version 5.0, 2009).

4.6.2 Dados de EDS e MEV

As análises de MEV e EDS tiveram o objetivo qualitativo de complementar a análise estatística dos dados de perfilometria. Assim, foram feitos gráficos com os dados de EDS para facilitar a visualização dos resultados e as imagens de MEV também foram apresentadas.

5 RESULTADOS

5.1 Perfilometria

A estatística descritiva dos dados obtidos pela avaliação da perfilometria em rugosímetro está apresentada na Tabela 1 e Figura 10. Os resultados parciais encontram-se no Apêndice B.

Tabela 1 – Estatística descritiva dos dados de perda de estrutura dentinária (em μm) nas diferentes condições experimentais

Trat.Sup	Etapa	média \pm desvio-padrão	mediana	valor mínimo	valor máximo
C	1	0,00 \pm 0,00	0,00	0,00	0,00
	2	4,33 \pm 1,42	4,47	2,19	6,52
	3	6,78 \pm 2,18	7,23	2,26	10,19
F	1	0,00 \pm 0,00	0,00	0,00	0,00
	2	5,50 \pm 2,20	5,20	2,68	9,48
	3	8,59 \pm 3,12	9,06	4,27	13,66
L	1	0,33 \pm 0,42	0,18	0,00	1,16
	2	1,45 \pm 0,63	1,46	0,55	2,58
	3	4,35 \pm 2,18	3,87	1,44	7,45
LF	1	0,27 \pm 0,27	0,25	0,00	0,75
	2	3,13 \pm 0,93	3,14	1,73	4,79
	3	7,45 \pm 2,39	6,71	4,61	11,89
FL	1	0,52 \pm 0,68	0,30	0,00	2,24
	2	3,46 \pm 1,07	3,27	1,94	5,81
	3	8,19 \pm 1,89	8,15	4,76	10,73

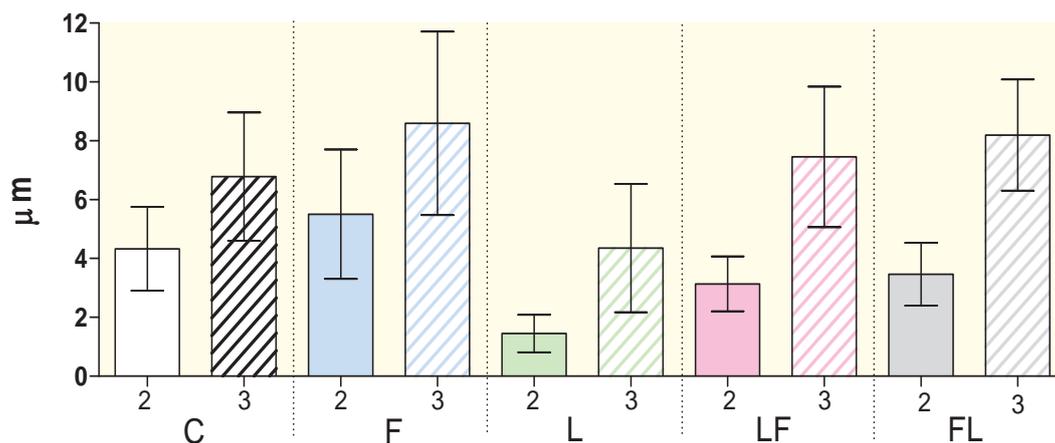


Figura 10 - Gráfico de colunas (média e desvios-padrão), em μm , para as condições experimentais estabelecidas pelos fatores em estudo: Tratamentos de superfície e Etapas (2 e 3).

A perda de estrutura dental causada pelo próprio tratamento de superfície (Etapa 1) em cada grupo está apresentada na Figura 11.

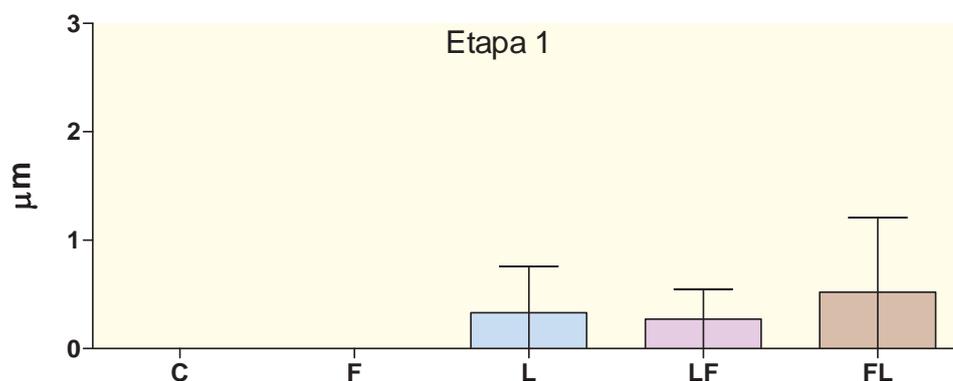


Figura 11- Gráfico de colunas (média e desvios-padrão), em μm , das condições experimentais estabelecidas pelos Tratamentos de superfície e Etapa 1.

Para avaliar o relacionamento entre os Tratamentos de superfície e as Etapas 2 e 3, os dados obtidos neste experimento foram submetidos ao modelo estatístico paramétrico de análise de variância (dois fatores) de medidas repetidas (Tabela 2), após serem avaliadas as suposições do modelo de análise de variância.

Os valores resíduos, decorrentes do ajuste do modelo adotado, foram examinados para avaliar a adequabilidade do modelo para válidas

inferências estatísticas e foi determinado que os dados originais propiciaram ajuste adequado, pois os valores residuais se ajustam a uma distribuição normal de probabilidade (teste de Anderson Darling: $p\text{-valor} = 0,118 > 0,05$; Figura 12) e, ainda foi verificada a uniformidade dos resíduos (homocedasticidade) por meio do gráfico dos valores residuais em relação aos valores ajustados.

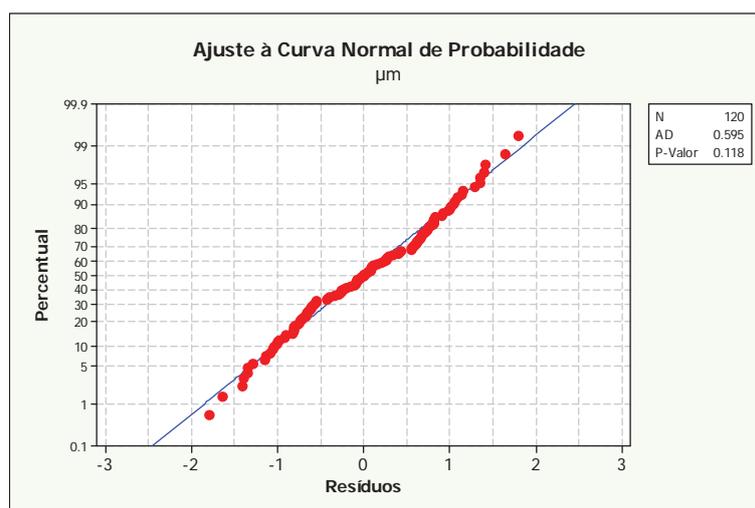


Figura 12 – Ajuste dos valores residuais à curva normal de probabilidade elucidando a homocedasticidade, o que justifica a utilização do teste paramétrico.

Tabela 2 - ANOVA de medidas repetidas para os dados de perda de estrutura dentinária (em μm) obtidos nas condições experimentais estabelecidas pelos fatores em estudo: Tratamentos de superfície e Etapas (2 e 3)

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Trat Superf	4	219,35	54,83	8,83	0,0001
Resíduo I	55	341,43	6,20		
Etapas	1	367,12	367,11	268,83	0,0001
Interação	4	22,71	5,67	4,16	0,0052*
Resíduo II	55	75,11	1,36		
Total	119	1025,71			

* $p < 0,05$

Verifica-se a possibilidade de rejeitar-se a hipótese de igualdade referente ao efeito interação entre as variáveis Tratamentos de superfície e Etapas ($p = 0,0052$).

Por meio do gráfico de médias, o efeito interação estatisticamente significativa é ilustrado, Figura 13.

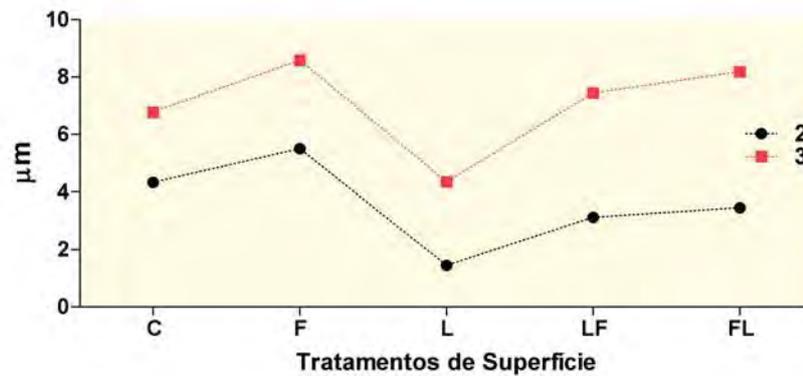


Figura 13 - Gráfico de médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Tratamentos de superfície e Etapas (2 e 3).

Sendo o efeito interação significativa, observa-se que o efeito Etapa (diferença entre o valor médio da etapa 3 em relação à etapa 2) não é o mesmo para os diversos tipos de tratamento superficial.

Quando se compararam os dez valores médios das condições experimentais por meio do teste de Tukey (5%), pode-se verificar que houve diferença estatística entre as etapas 2 e 3 em todos os grupos ($p < 0,05$), sendo que a perda dentinária da etapa 3 foi significativamente maior do que a da etapa 2.

Na etapa 2, as médias de perda de estrutura dentinária, em μm , foram: F (5,50 bcd) > C (4,33 d) > FL (3,46 de) = LF (3,13 de) > L (1,45 e). Na etapa 3, foram: F (8,59 a) = FL (8,19 a) > LF (7,45 ab) > C (6,78 abc) > L (4,35 cd).

Tabela 3 - Formação de grupos de mesmo desempenho após o teste de Tukey (5%) para as dez condições experimentais

Tratamentos superfície	Etapas	Média (μm)	Grupos homogêneos*			
C	2	4,33				D
	3	6,78	A	B	C	
F	2	5,50		B	C	D
	3	8,59	A			
L	2	1,45				E
	3	4,35			C	D
LF	2	3,13				D E
	3	7,45	A	B		
FL	2	3,46				D E
	3	8,19	A			

*valores médios seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente.

5.2 EDS e MEV

As porcentagens de cálcio e fósforo, de acordo com o tratamento de superfície (C, F, L, LF e FL) e com a etapa de avaliação, obtidas no EDS, estão apresentadas na Tabela 4 e nas Figuras 14 e 15.

Quadro 2 – Porcentagens de cálcio e fósforo encontradas nas diferentes condições experimentais estabelecidas pelos fatores de estudo: Tratamentos de superfície e Etapas

Tratamento superfície	Etapas	% Ca	% P	% Outros elementos
C	0	41,09	19,72	39,19
	1	31,91	16,75	51,34
	2	6,38	4,37	89,25
	3	6,55	3,13	90,32
F	0	33,08	18,85	48,07
	1	25,33	13,92	60,75
	2	3,19	2,90	93,91
	3	7,87	3,64	88,49
L	0	38,58	19,67	41,75
	1	34,20	18,63	47,17
	2	5,38	4,23	90,39
	3	8,48	3,62	87,90
LF	0	39,81	19,95	40,24
	1	31,67	16,46	51,87
	2	9,89	2,47	87,64
	3	10,91	4,91	84,18
FL	0	36,96	20,27	42,77
	1	34,04	17,21	48,75
	2	4,03	1,43	94,54
	3	18,50	10,63	70,87

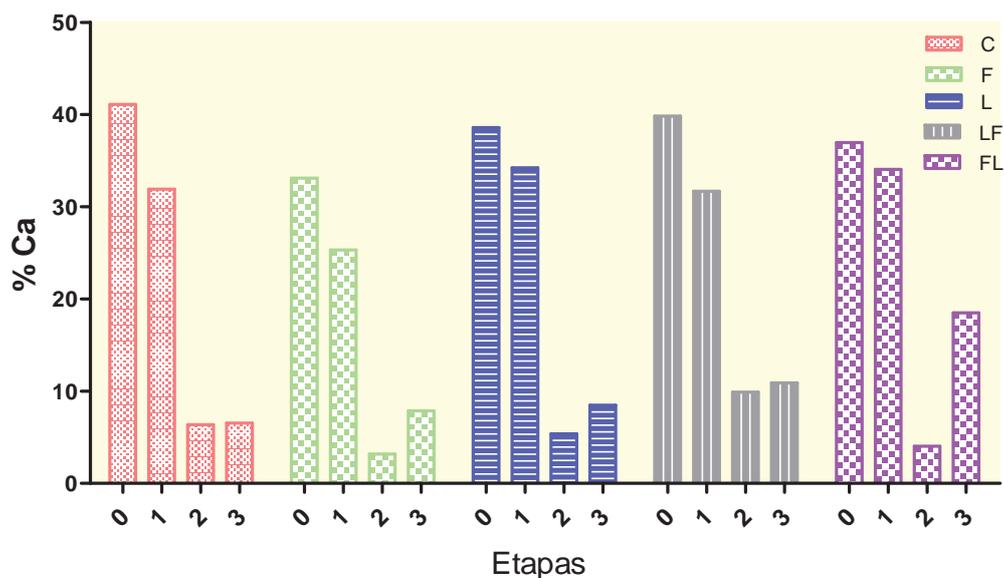


Figura 14 - Porcentagem de cálcio encontrada nas diferentes condições experimentais estabelecidas pelos tratamentos de superfície e etapas.

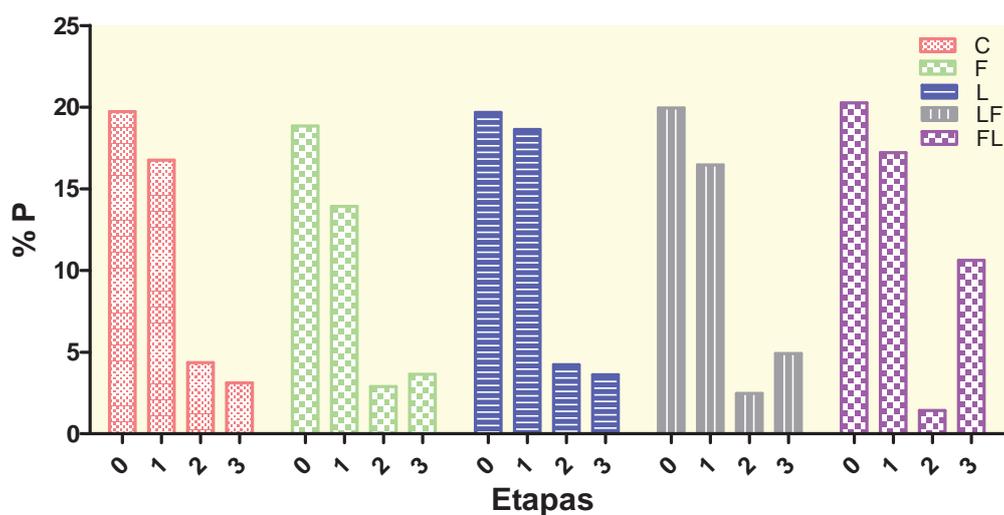


Figura 15 - Porcentagem de fósforo encontrada nas diferentes condições experimentais estabelecidas pelos tratamentos de superfície e etapas.

Na avaliação por EDS, observa-se que houve pouca perda de mineral da etapa 0 para a etapa 1. No entanto, após o desafio erosivo por 5 dias, houve grande perda de cálcio e fósforo da superfície dentinária. Após o armazenamento em saliva artificial por 7 dias, houve reincorporação de cálcio e fósforo à superfície dentinária, excluindo-se a recuperação de fósforo pelo

espécime controle e laser Nd:YAG. O espécime FL foi o que notavelmente mais reincorporou o cálcio e fósforo na etapa 3.

As imagens de MEV tiveram objetivo ilustrativo e qualitativo, auxiliando na discussão dos resultados. O aumento utilizado foi de 2000X, Figuras 16-19. Na Figura 17, pode-se observar que os espécimes F, L e LF apresentaram vedamento dos túbulos dentinários logo após o tratamento de superfície, sendo que o FL apresentou precipitados dentro dos túbulos dentinários. No espécime F, isso denota que ainda que se tenha realizado a remoção do verniz de flúor com acetona, ainda permaneceu remanescente de verniz sobre a superfície e provavelmente também dentro dos túbulos dentinários. Já no espécime L, este vedamento quase que total dos túbulos deve ter ocorrido em função da camada de *melting* formada sobre a superfície dentinária.

Logo após o desafio erosivo por 5 dias (Figura 18), houve aumento da quantidade de túbulos dentinários abertos e também pode-se notar aumento do diâmetro dos túbulos na maioria dos espécimes, com exceção ao espécime FL, que apresentou poucos túbulos abertos mesmo após o desafio erosivo. O espécime F também apresentou menos túbulos abertos que os demais e em menor diâmetro.

Após o armazenamento em saliva artificial por 7 dias (Figura 19), é possível visualizar aumento das irregularidades da superfície, especialmente nos espécimes LF e FL, os quais apresentaram crateras de erosão. No espécime LF, nota-se grande destruição da dentina intertubular. Já o espécime FL, ainda permaneceu com poucos túbulos dentinários abertos mesmo após este período de armazenamento, ainda que apresentasse grandes crateras de erosão.

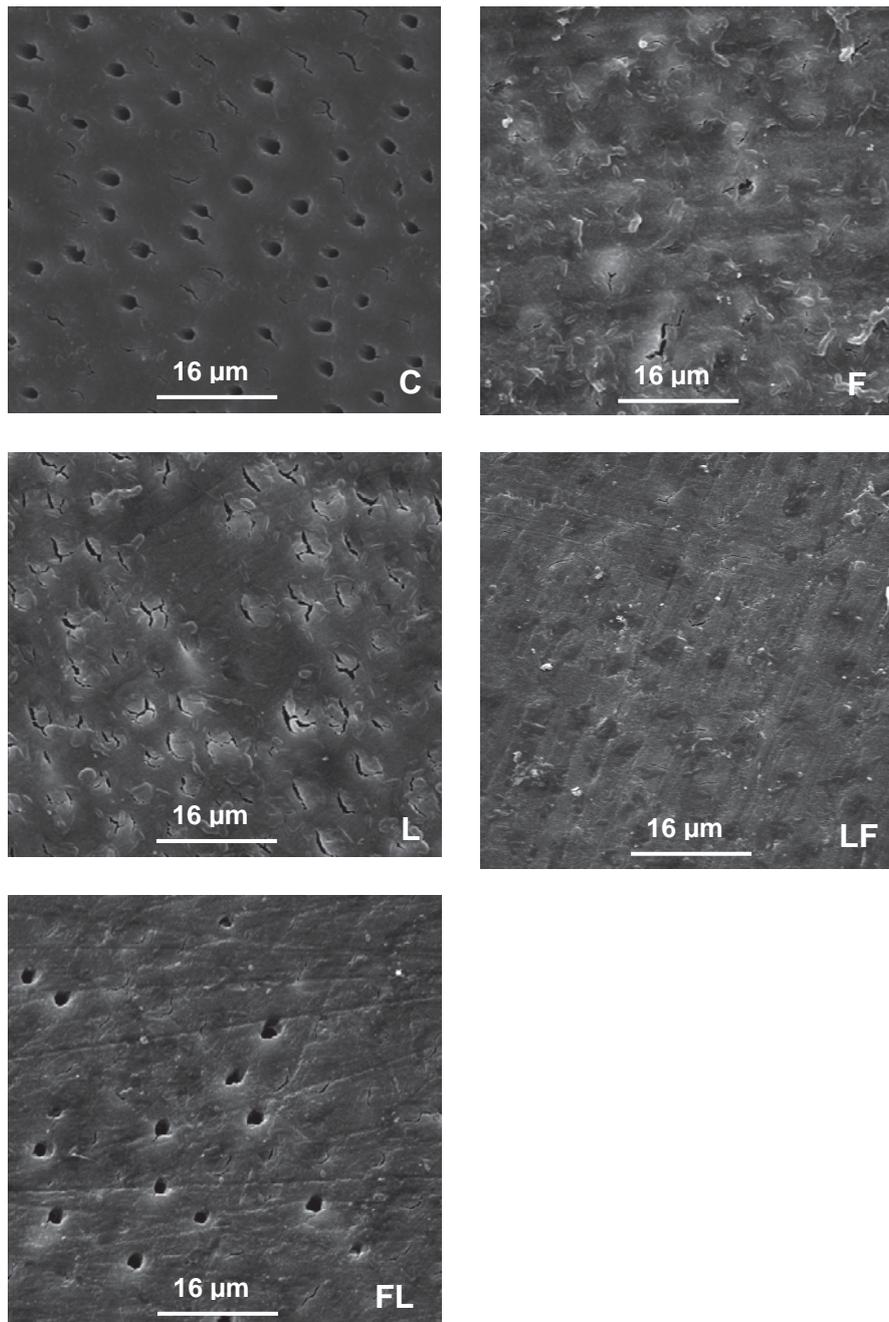


Figura 16- MEV da Etapa 0 para cada um dos tratamentos de superfície. A superfície dentinária apresenta-se regular com túbulos dentinários completamente ou parcialmente obliterados.

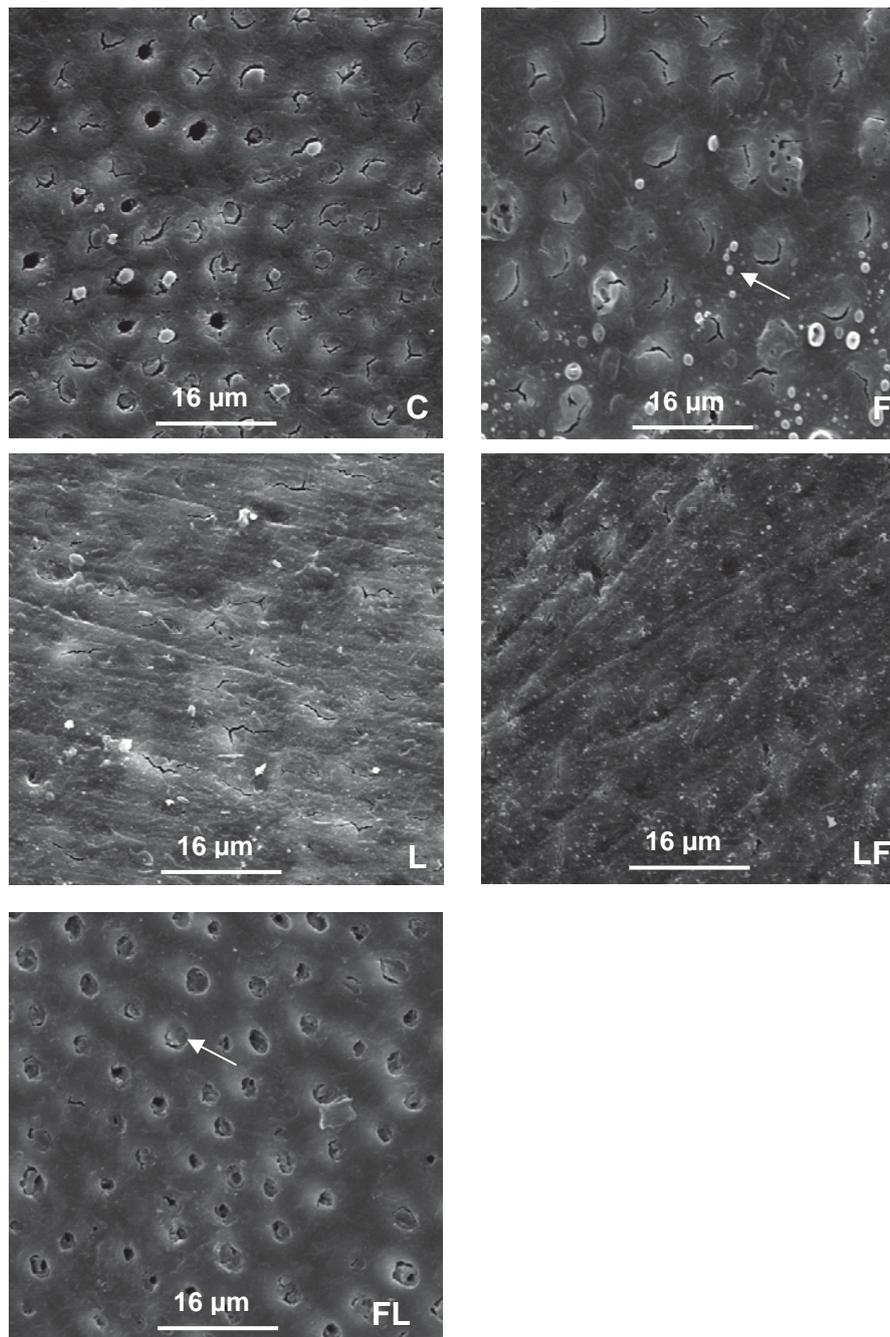


Figura 17- MEV da Etapa 1 para cada um dos tratamentos de superfície. C, L e LF) aparência semelhante à Etapa 0; F) nota-se a presença de remanescentes de verniz de flúor formando depósitos sobre a superfície (seta) e túbulos dentinários totalmente ou parcialmente fechados; FL) presença de mais túbulos dentinários abertos em relação à Etapa 0, sendo que a maioria deles apresenta depósitos em seu interior (seta).

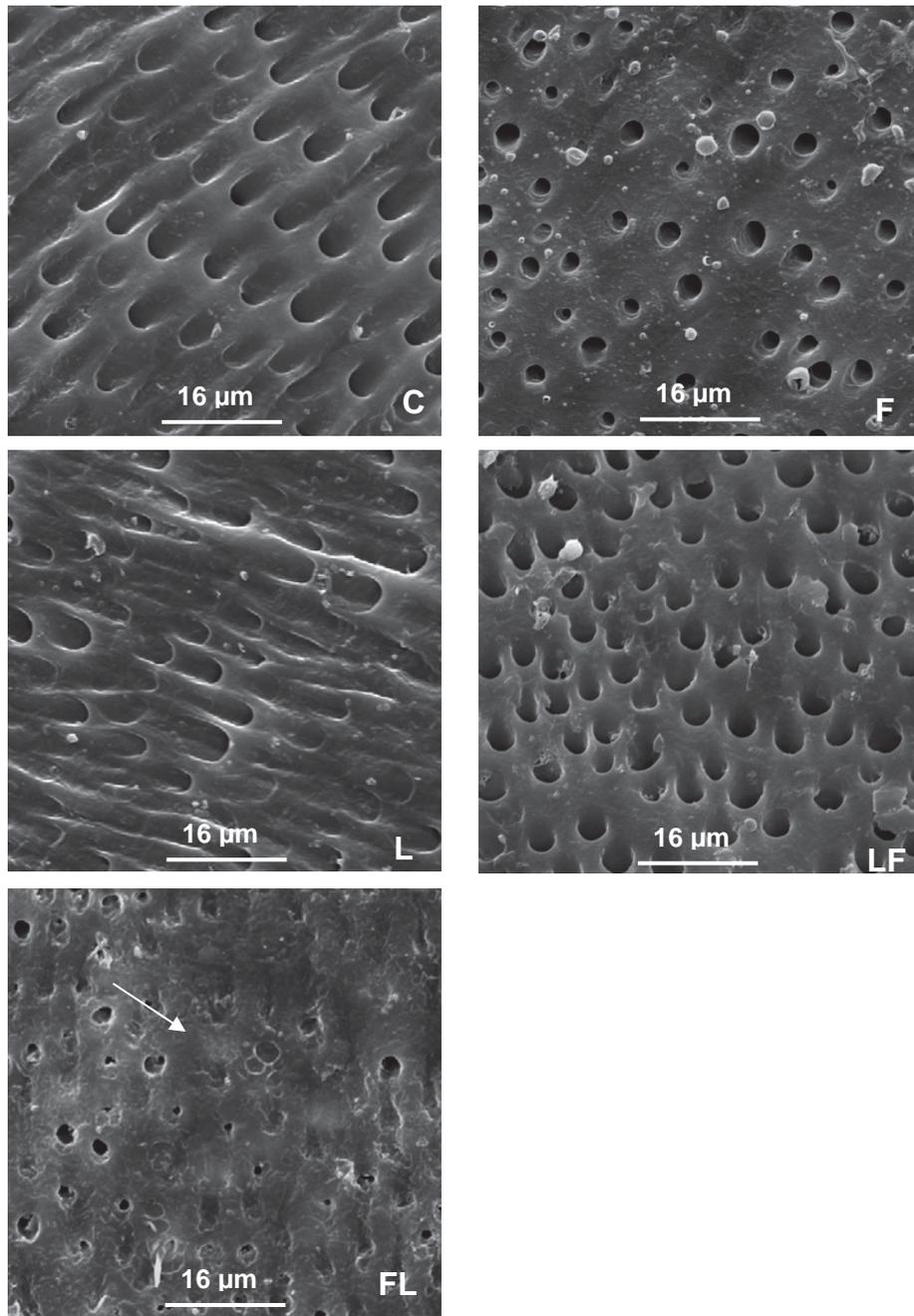


Figura 18 – MEV da Etapa 2 para cada um dos tratamentos de superfície. Todos os espécimes apresentaram aumento do diâmetro e da quantidade de túbulos dentinários abertos em relação à Etapa 1. Os espécimes F e FL apresentaram menos túbulos abertos e em menor diâmetro do que os demais, sendo que a superfície do FL apresentou-se mais irregular e parecia conter uma camada de dentina com aparência de “derretida” (seta).

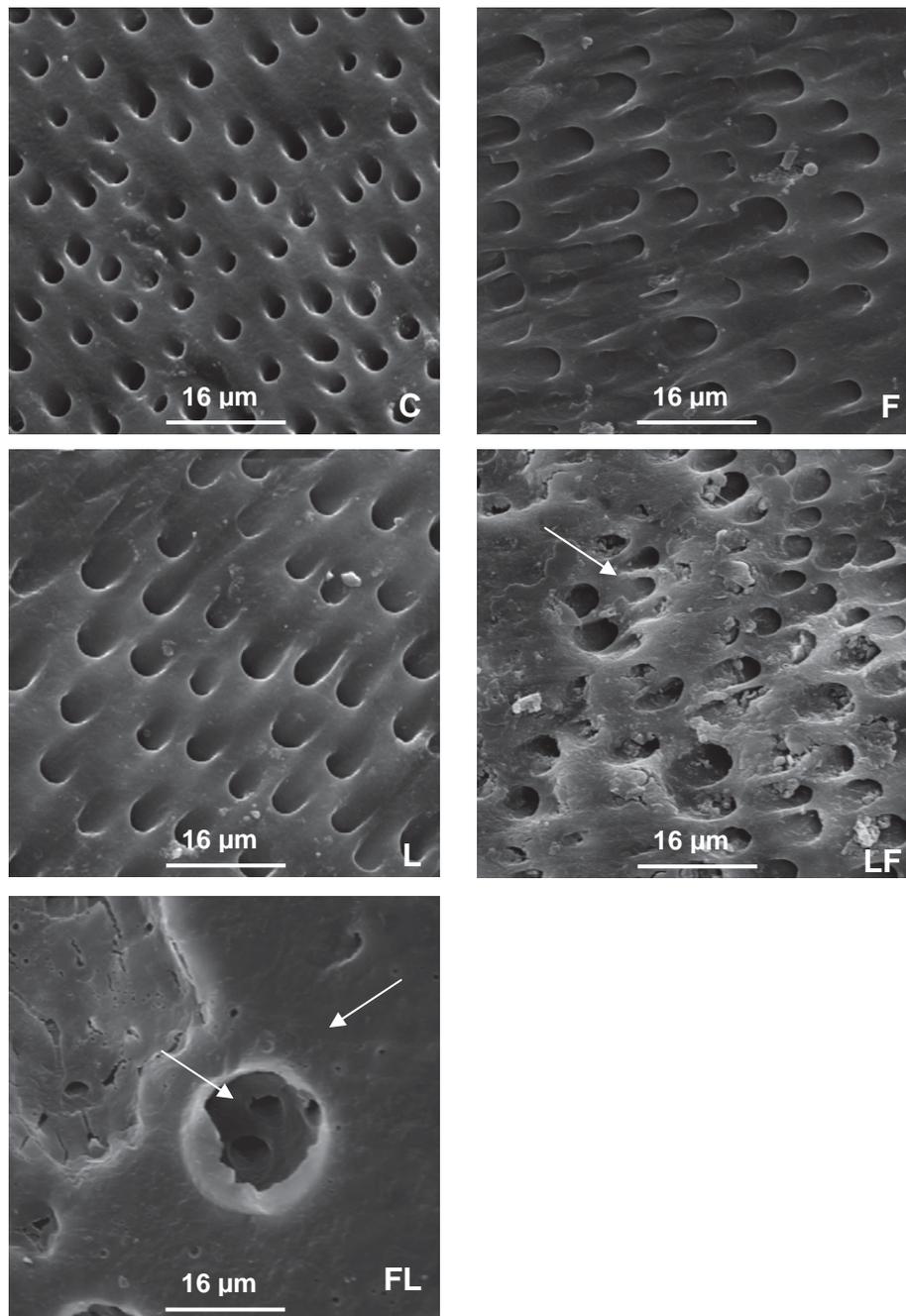


Figura 19 – MEV da Etapa 3 para cada um dos tratamentos de superfície. As superfícies dentinárias apresentaram-se mais irregulares do que na Etapa 2, especialmente nos espécimes LF e FL, onde se nota a presença de crateras de erosão (setas). O espécime FL apresentou crateras mais profundas e a camada de dentina “derretida” ainda permaneceu sobre a superfície (seta à direita). A aparência dos espécimes C, F e L foi semelhante, contendo a maioria dos túbulos dentinários abertos.

6 DISCUSSÃO

6.1 Da metodologia

Optou-se por avaliar a erosão em dentina bovina e não em esmalte, já que os métodos de prevenção da erosão em esmalte vêm sendo mais estudados do que em dentina. A utilização de dentina bovina ao invés da dentina humana deu-se em função da maior facilidade de se obter quantidade suficiente de dentes hígidos para o experimento e também porque a área superficial dos dentes bovinos é muito maior do que a dos dentes humanos, permitindo a obtenção de mais de um espécime do mesmo dente e permitindo que as superfícies controle e tratada provenham do mesmo elemento (Wegehaupt et al., 2008).

A revisão de literatura realizada neste estudo revelou que inúmeros tipos de ácidos são utilizados para se produzir erosão dental nos estudos atuais, tais como o ácido cítrico (Ganss et al., 2004ab; Lagerweij et al., 2006; Ganss et al., 2008; Wegehaupt et al., 2008; Schlueter et al., 2009; Austin et al., 2010; Heurich et al., 2010; Steiner-Oliveira et al.; 2010), o ácido clorídrico (Wiegand et al., 2008b, Wiegand et al., 2009), o ácido hidrocloreídrico (Vlacic et al., 2007b, Wiegand et al. 2008c), o refrigerante Sprite Zero (Magalhães AC et al., 2010), o refrigerante Sprite (Vieira et al., 2007), o ácido láctico (Kameyama et al., 2000), os sucos de frutas ácidas (Naylor et al., 2006) e o refrigerante à base de cola (Rios et al.; 2008, Souza et al., 2010). A opção por se utilizar o ácido cítrico baseou-se no seu baixo pH (2,3 em média), na sua facilidade de manipulação e na sua alta incidência de uso nas pesquisas recentes em relação aos outros tipos de ácidos.

A escolha do verniz de flúor Duraphat deu-se em função dele ser amplamente utilizado clinicamente e porque se verificou em outro estudo que este verniz apresentou-se como a melhor opção para reduzir parcialmente

a erosão dentinária (Magalhaes AC et al., 2010). Não se utilizou o FFA porque se acreditava que o fato dele ser ácido pudesse ter alguma influência sobre a superfície, o que poderia prejudicar a perfilometria.

De acordo com o fabricante, Duraphat contém 2,26% F, 33,1% de álcool etílico, resinas naturais (colofônia, goma-laca, mástica), cera de abelha, sacarina e aroma. Neste estudo, o verniz de flúor foi aplicado uma única vez para simular a situação clínica em que, normalmente, realiza-se uma única aplicação profissional. Optou-se pela remoção do verniz de flúor após 6 h, previamente ao desafio erosivo, já que não se queria avaliar a proteção mecânica oferecida pelo material, e sim o seu efeito químico. Assim, o verniz foi removido após 6 h para simular a situação clínica em que ele é removido após algumas horas pela escovação e/ou mastigação. Outros estudos publicados também já utilizaram este tempo para remoção do verniz Duraphat (Magalhães AC et al., 2008b; Magalhães AC et al., 2010; Souza et al., 2010). Além disso, as informações do fabricante também auxiliaram na escolha do tempo de 6 h para a sua remoção, uma vez que se recomenda que após a aplicação do verniz, o paciente não coma alimentos duros ou escove os dentes por, pelo menos, 4 h após a sua aplicação.

A remoção do verniz foi realizada com cotonete embebido em acetona baseando-se em trabalhos anteriores (Attin et al., 2000; Magalhães AC et al., 2008b; Magalhães AC et al., 2010; Vlacic et al., 2007b) que também utilizaram este produto sobre tecidos dentários como dentina e esmalte. Não se utilizou lâmina de bisturi para auxiliar a remoção do verniz porque isso poderia criar imperfeições na superfície da amostra, o que comprometeria os resultados.

A literatura revela inúmeros agentes fluoretados de alta concentração na forma de soluções, géis e vernizes, que podem ser utilizados na prevenção de erosão dental, dentre eles estão: NaF, AmF, SnF₂ e FFA. Esses agentes fluoretados são utilizados há anos na prevenção de cárie dental e a eficácia dos fluoretos em afetar o processo de des-remineralização está relacionada a sua concentração e pH. Quanto menor o pH do agente fluoretado, maior a capacidade de formação de precipitado de CaF₂ (Ten Cate, 1997).

O potencial dos fluoretos convencionais, tais como o fluoreto de sódio, em prevenir a erosão dental está relacionado à formação da camada de CaF_2 que parece agir como barreira física protetora, impedindo o contato do ácido com a estrutura dental ou agindo como uma reserva de mineral, que tampona o ácido ou remineraliza a estrutura dental diante de um desafio erosivo (Ganss et al., 2007b; Saxegaard, Rolla, 1988). A formação da camada de CaF_2 e os seus efeitos protetores dependem do pH, da concentração de flúor do tipo de sal de flúor e do veículo (Magalhães AC et al., 2009; Saxegaard, Rolla, 1988). No entanto, os precipitados de CaF_2 são muito solúveis em ácido e, assim, a capacidade protetora do fluoreto de sódio contra a erosão é, provavelmente, limitada (Wang et al., 2008).

Mais recentemente, outros agentes fluoretados, tais como os tetrafluoretados (TiF_4 , ZrF_4 e HfF_4) vêm sendo investigados quanto a sua capacidade de prevenir a erosão dental (Hove et al., 2007; Magalhães AC et al., 2008a; Schlueter et al., 2007; Vieira et al., 2006; Vieira et al., 2005; Wiegand et al., 2008b; Wiegand et al., 2008c), sendo que vários estudos mostraram que eles apresentaram efeito inibitório na erosão dental (Hove et al., 2007; Schlueter et al., 2007).

Embora haja uma grande variedade de estudos publicados relacionando o uso de laser com a prevenção da cárie, há poucos estudos que avaliaram o efeito isolado da aplicação de laser de Nd:YAG na prevenção da erosão e sua ação combinada com o flúor. Através de pesquisa na base de dados Medline, em esmalte, encontra-se apenas um estudo publicado que verificou que a aplicação de gel de fluoreto de sódio neutro 1,23% (NaF 1,23%) prévia ao uso de alguns tipos de laser, dentre eles o laser de Nd:YAG, foi capaz de exercer efeito protetor contra a erosão em esmalte humano (Vlacic et al., 2007b). Da mesma forma, em dentina, também somente um trabalho publicado avaliou este efeito combinado e verificou-se que o laser de Nd:YAG isoladamente não foi capaz de diminuir a erosão dentinária, mas a sua utilização após o uso de FFA 1,23% e verniz de flúor Duraphat foi capaz de aumentar a resistência da dentina à erosão (Magalhães AC et al., 2008b). Assim, ambos os autores obtiveram bons resultados quanto à diminuição da erosão quando se associou o laser de Nd:YAG após a aplicação de flúor.

O laser de Nd:YAG foi utilizado devido a sua capacidade de promover a oclusão e diminuição do diâmetro dos túbulos dentinários (Naylor et al., 2006) e de formar uma camada de dentina derretida denominada de *melting*, o que poderia ter influência positiva sobre a progressão da lesão de erosão dentinária. Esse tipo de laser mostra-se eficiente no tratamento de hipersensibilidade dentinária, além de ter as vantagens de ser de fácil aplicação, indolor, agir rapidamente e não pigmentar os tecidos bucais (Birang et al., 2007; Ciaramicoli et al., 2003; Gelskey et al., 1993; Lan, Liu, 1996).

Apesar de se encontrarem estudos com laser de Nd:YAG relacionados à prevenção da cárie dental e ao tratamento da hipersensibilidade dentinária, pouco se sabe a respeito dos seus efeitos isolados ou combinados com a utilização de flúor na prevenção da erosão dental. Acredita-se que as mudanças morfológicas induzidas pelo tratamento superficial de estruturas dentais com laser, como a redução do conteúdo de carbonato (Nelson et al., 1987) e o vedamento dos túbulos dentinários, podem levar à redução da progressão de lesões de erosão.

A potência de 1 W do laser de Nd:YAG foi escolhida para esta pesquisa baseando-se em estudos anteriores que utilizaram este laser para prevenir cárie, erosão ou hipersensibilidade dentinária. As potências utilizadas nestes estudos variaram entre 0,5 W e 1 W (Magalhães AC et al., 2008b, Naylor et al., 2006; Zezell et al., 2009). No atual estudo, optou-se por utilizar 1 W porque era a menor potência possível de se utilizar no aparelho de laser de Nd:YAG que se tinha disponível para uso na pesquisa.

Decidiu-se avaliar a perda de estrutura dentinária apenas após 5 dias de desafio erosivo porque um estudo evidenciou que, entre 1 e 3 dias, os resultados são muito mais positivos, principalmente quando se realiza tratamento superficial com flúor (Magalhães AC et al., 2010). Especula-se que a perda do efeito benéfico protetor do flúor ocorra em pouco tempo porque a camada de CaF_2 formada sobre a superfície dental deve ser pouco resistente aos desafios erosivos. Magalhães AC et al. (2010) verificaram que a base e o flúor contidos nos vernizes não resistem aos desafios erosivos a partir do 5º dia. Dessa forma, avaliações de perda de estrutura dentinária prévias ao 5º dia de desafio erosivo, poderiam fornecer melhores resultados, mas poderiam não ser representativas do que ocorreria a mais longo prazo. Além disso, acredita-

se que se o efeito do tratamento de superfície for pouco duradouro, o método não poderia ser considerado efetivo, pois dificilmente um paciente repetiria o tratamento em prazos tão curtos.

Sabe-se que a película adquirida formada *in vivo* exerce função protetora contra a desmineralização por erosão e que as mucinas presentes na saliva funcionam como lubrificantes que também protegem a estrutura dental contra a erosão e a abrasão (Hara et al., 2006; Hara et al., 2008). No entanto, a saliva artificial não é capaz de simular a formação da película adquirida (Hara et al., 2006). Dessa forma, a opção por se utilizar saliva artificial neste estudo nos leva a acreditar que, ao extrapolar os resultados obtidos para a situação *in vivo*, pode ser que ocorra menor perda de estrutura por erosão. Apesar disso, de acordo com alguns autores, a película adquirida oferece maior proteção contra a erosão ao esmalte do que à dentina (Hara et al., 2006; Wetton et al., 2006). Como este estudo foi realizado em dentina bovina, a utilização de saliva artificial foi a opção adequada.

Vale ressaltar que, apesar de ter sido utilizado o rugosímetro para avaliação da perda de estrutura dentinária, os resultados obtidos não têm nenhuma relação com valores de rugosidade média superficial. Este aparelho só foi utilizado porque permite que seja feita a medição do “degrau”, em μm , da diferença entre a superfície de referência e a que sofreu desafio erosivo. A técnica de perfilometria ainda é a mais frequente para quantificar as mudanças de superfície em tecidos dentais duros (Rios et al., 2006, Vieira et al, 2006; Sales-Peres et al, 2007, Wiegand et al, 2008d) e pode ser realizada com uma extremidade de contato ou a laser, sendo que a primeira é mais amplamente utilizada, o que contribuiu para se optar por ela. Para complementar os resultados obtidos por perfilometria, realizou-se a análise por EDS para quantificar o cálcio e fósforo presentes na superfície dentinária e, em MEV, para observar as características morfológicas das superfícies em estudo.

Pode ser que a avaliação da perda de estrutura dentinária por perfilometria sofra a influência da contração da dentina em função de desidratação. Entretanto, os devidos cuidados para se evitar o ressecamento da superfície foram tomados: os espécimes eram removidos da saliva artificial apenas no momento de se realizar a perfilometria e a superfície dos mesmos permanecia úmida durante toda a análise.

6.2 Dos resultados

A erosão é a perda irreversível de tecido dentário, acompanhada de um progressivo amolecimento da superfície (Amaechi, Higham, 2001) causada pela ação de ácidos de origem não bacteriana. A lesão inicia-se em esmalte, em pH menor do que 4,5, o qual leva à dissolução dos cristais de hidroxiapatita, resultando em uma lesão superficial (Magalhães AC et al., 2009). Se o processo persistir, a lesão chegará em dentina, resultando na exposição de uma camada externa de matriz orgânica totalmente desmineralizada, seguida de uma zona de dentina parcialmente desmineralizada e, finalmente, da dentina hígida (Kinney et al., 1995).

Conforme comentado na metodologia, a etapa 1 teve o objetivo apenas de determinar a perda de estrutura dental causada pelo próprio tratamento de superfície, uma vez que a superfície referencial para análise perfilométrica das etapas 2 e 3 não pôde receber o tratamento de superfície porque isso dificultava a definição do “degrau”. As perdas de estrutura dentinária obtidas na etapa 1 (Figura 11) mostram que os grupos C e F não apresentaram perda de estrutura, enquanto que os outros grupos já apresentaram alguma perda, sendo que as médias de perda de estrutura dentinária na etapa 1 foram, em μm : FL (0,52) > L (0,33) > LF (0,27).

Os resultados da etapa 1 sugerem que o laser de Nd:YAG deve ter aquecido ligeiramente a superfície, o que justificaria a perda de estrutura dental nos grupos em que se utilizou tal laser. A aplicação de flúor previamente ao uso do laser parece que potencializou a sua ação, intensificando a perda de estrutura, já que esta foi maior no espécime FL. Além disso, somente neste grupo observou-se a formação de uma camada de *melting*.

Após os 5 dias de desafio erosivo (Etapa 2), as médias de perda de estrutura dentinária, em μm foram F (5,50 μm) > C (4,33 μm) > FL (3,46 μm) = LF (3,13 μm) > L (1,45 μm). Percebe-se que não houve diferença estatística significativa entre as condições experimentais LF e FL nesta etapa, sendo que o tratamento com verniz de flúor o único que não reduziu a perda dentinária. Já o tratamento com laser de Nd:YAG foi o mais efetivo nesta etapa.

Acredita-se que a utilização do verniz de flúor não tenha sido eficiente para prevenir a perda de estrutura dentinária porque o seu efeito benéfico deve estar mais associado à sua proteção mecânica do que aos seus efeitos químicos sobre a estrutura dental. Como foi realizada a remoção do verniz previamente ao desafio erosivo, perdeu-se a propriedade de proteção mecânica. Além disso, o pH do Duraphat é 4,5, o que não é considerado um pH muito baixo, sendo que isso pode resultar na formação de uma fina camada de CaF_2 .

Ainda há controvérsias quanto ao efeito benéfico do flúor na prevenção de erosão dentinária. Assim como no presente estudo, Austin et al. (2010) não encontraram efeito benéfico de soluções de fluoreto de sódio em dentina, apesar das mesmas soluções terem sido eficientes para se prevenir a erosão em esmalte. Magalhães AC et al. (2010) verificaram que o verniz de flúor Duraphat foi capaz de reduzir a perda dentinária por erosão ao longo do tempo, mas não diferiu estatisticamente do placebo no 3º e 5º dias. Vale ressaltar que esses autores utilizaram desafio erosivo menos agressivo do que o nosso uma vez que os espécimes eram colocados em Sprite Zero por 4 x 90 s/dia somente. Souza et al. (2010) verificaram que o Duraphat não foi capaz de proteger o esmalte bovino contra a erosão realizada com refrigerante à base de cola por 10 dias e relatam que os glóbulos de CaF_2 não devem ter resistido aos sucessivos ataques erosivos.

Em contrapartida, Ganss et al. (2004b) verificaram que o tratamento intensivo com flúor foi efetivo na prevenção da perda mineral do esmalte e dentina. Esses autores utilizaram desafio erosivo com ácido cítrico de forma semelhante ao presente estudo, mas utilizaram outros tipos de flúor (dentifrício SnF_2 com 0,14% F^- , solução SnF_2 com 0,025% F^- e gel NaF com 1,25% F^-) e não utilizaram o verniz de flúor Duraphat. O que pode ter contribuído para a efetividade do flúor neste estudo é o fato de que os autores aplicaram as soluções fluoretadas durante os 5 dias de desafio erosivo e não somente uma vez como no presente estudo. Wiegand et al. (2009) verificaram que a erosão dentinária pode ser reduzida com TiF_4 e solução de NaF pH 1,2, mas não de pH 3,5. Vale ressaltar que o desafio erosivo utilizado no presente estudo foi bastante agressivo, já que se realizou imersão em ácido cítrico por 2

x 15 min durante 5 dias, o que pode ter contribuído para que os tratamentos de superfície não demonstrassem muita efetividade.

Logo após os 5 dias de desafio erosivo, a combinação de laser com flúor, independentemente da ordem, levou a menores perdas de estrutura dentinária do que a aplicação de flúor isoladamente, mas não foi melhor do que a aplicação de laser isoladamente. A ação combinada do laser de Nd:YAG com flúor foi testada porque se acreditava que pudesse haver algum efeito sinérgico entre os dois tratamentos, o que aumentaria os efeitos benéficos sobre a progressão de lesões de erosão dentinária. No entanto, neste estudo, não se observaram vantagens desta combinação quanto à perda de estrutura dentinária nas etapas 2 e 3 comparativamente à utilização apenas do laser. Ainda se nota a necessidade de novos estudos sobre esta combinação de flúor e laser na prevenção da erosão dental. Magalhães AC et al. (2008b) encontraram menores perdas de estrutura dentinária por erosão quando se utilizou o verniz de flúor seguido de laser de Nd:YAG 0,75W em relação à utilização apenas do laser de Nd:YAG em três diferentes potências: 0,5 W, 0,75 W e 1,0 W. Pesquisa realizada por Vlacic et al. (2007b), em esmalte humano, também apontou resultados efetivos quando se associou solução de FFA 1,23% ao uso de alguns tipos de laser, inclusive o de Nd:YAG com 30 mW. Vale lembrar que nesses dois estudos, o desafio erosivo utilizado não foi tão agressivo como o que se utilizou no presente estudo.

As médias de perda de estrutura dentinária após os 5 dias de desafio erosivo mais 7 dias de armazenamento (Etapa 3) foram: F (8,59 μm) = FL (8,19 μm) > LF (7,45 μm) > C (6,78 μm) > L (4,35 μm). Após este período, somente a condição L foi efetiva em reduzir a perda de estrutura dentinária, o que denota que todos os outros tratamentos de superfície perderam a sua efetividade após a erosão e mais 7 dias de armazenamento em relação ao grupo controle.

No entanto, no Quadro 3, observa-se que quando se particulariza a perda de estrutura em cada período (pós-erosão, pós-armazenamento, pós-erosão + armazenamento), o tratamento com laser de Nd:YAG foi o que levou à maior perda durante o período apenas de armazenamento.

Quadro 3- Médias das perdas de estrutura dentinária, em μm , da etapa 2 (pós-erosão), da etapa de transição de 2 para a 3 (pós-armazenamento) e da Etapa 3 (pós- erosão + armazenamento); porcentagens de perda em relação ao valor final obtido na Etapa 3.

Tratamento de superfície	Etapa 2 (μm)	Perda Etapa 2	Etapa 2-3 (μm)	Perda Etapa 2-3	Etapa 3 (μm)
C	4,33	63%	2,45	36%	6,78
F	5,50	64%	3,09	36%	8,59
L	1,45	34%	2,90	66%	4,35
LF	3,13	42%	4,32	58%	7,45
FL	3,46	42%	4,73	58%	8,19

Assim, apesar da média absoluta de perda de estrutura no grupo L ter sido menor em ambas as etapas 2 e 3, a sua porcentagem de perda apenas durante os 7 dias de armazenamento em saliva artificial foi maior do que nos outros grupos. Por outro lado, os grupos F e C foram os que apresentaram a menor porcentagem de perda relativa durante o período de armazenamento. Suspeita-se que se fosse realizada uma nova medida de perfilometria a mais longo prazo, o grupo F poderia resultar em menor média absoluta de perda de estrutura do que os outros, apresentando resultados mais satisfatórios.

Como o que mais interessa para a Odontologia são os resultados a longo prazo, há a necessidade de realização de estudos com tempo de desafio erosivo superior ao que foi utilizado, uma vez que os resultados de perda de estrutura dentinária sugerem que, quanto maior o período de armazenamento, as mudanças se intensificam.

Especula-se que o aumento significativo de perda dentinária entre as etapas 2 e 3 tenha sido influenciado pela alteração do pH da saliva à temperatura ambiente que, tornando-se mais ácida, resultou em mais erosão. De acordo com Souza et al. (2010), a instabilidade do pH das soluções pode interferir com os resultados. Outras pesquisas com controle diário de pH da saliva artificial e com o uso de estufa biológica, para se controlar melhor a temperatura, são necessárias para que se possa elucidar tal fato de forma mais eficiente. Também é provável que tenha ocorrido degradação da camada de

matriz colágena desmineralizada sobre a superfície dos espécimes devido à contaminação bacteriana, o que pode ter diminuído a proteção da dentina subjacente contra a erosão. A associação da perda desta camada de colágeno desmineralizado com a mudança de pH da saliva artificial pode justificar o aumento da perda de estrutura dental por erosão observado na Etapa 3.

Sabe-se que quanto maior o tempo de desafio erosivo, mais o conteúdo orgânico da dentina fica exposto, agindo como uma barreira à difusão do ácido, reduzindo a progressão da perda deste tecido (Ganss et al., 2004ab; Ganss et al., 2005; Hara et al, 2006). A maior perda proporcional de estrutura, na fase apenas de armazenamento, ocorrida em todos os grupos que tiveram tratamento com laser em relação aos grupos F e C (Quadro 3), sugere que a alteração de superfície causada pelo laser pode ter dificultado a exposição do colágeno pelo ácido, intensificando a perda de estrutura nesses grupos durante este período.

O EDS permitiu a avaliação das porcentagens de cálcio e fósforo remanescentes na superfície dentinária após as diversas etapas em estudo. Estes minerais são os principais constituintes da hidroxiapatita e, quando a dentina é exposta a um ácido, a primeira ocorrência é a liberação dos minerais da junção entre a dentina peritubular e intertubular (Wegehaupt et al, 2008).

Em todos os espécimes, foi possível se observar que a porcentagem de cálcio e fósforo diminuiu muito pouco logo após o tratamento superficial (5 a 26%), ou seja, da etapa 0 para a etapa 1. No entanto, a perda destes elementos foi drástica logo após o desafio erosivo, ou seja, da etapa 1 para a etapa 2, variando de 68 a 91% de perda, dependendo do tratamento de superfície. A ordem decrescente de perda destes minerais da Etapa 1 para a Etapa 2 foi (Quadro 4): cálcio (FL-88% > F-87% > L-84% > C-80% > LF-68%) e fósforo (FL-91% > LF-85% > F-79% > L-77% > C-73%) (Quadro 4).

Após o período de armazenamento em saliva artificial, apesar das condições experimentais F e FL terem apresentado a maior perda significativa absoluta de estrutura dental, a FL foi a que mais recuperou os níveis de cálcio e fósforo após armazenamento em saliva artificial por 7 dias. Provavelmente esta maior recuperação deveu-se às grandes irregularidades formadas na superfície (Figura 19FL), que favoreceram o acúmulo de minerais.

Quadro 4- Variação da porcentagem de minerais entre as etapas avaliadas por EDS.

Tratamento superfície	Etapa	Ca	P
C	0-1	-22%	-15%
	1-2	-80%	-73%
	2-3	+2%	-28%
F	0-1	-23%	-26%
	1-2	-87%	-79%
	2-3	+146%	+25%
L	0-1	-11%	-5%
	1-2	-84%	-77%
	2-3	+57%	-14%
LF	0-1	-20%	-17%
	1-2	-68%	-85%
	2-3	+10%	+98%
FL	0-1	-7%	-15%
	1-2	-88%	-91%
	2-3	+359%	+643%

Esperava-se que os tratamentos de superfície fossem reduzir a perda de cálcio e fósforo logo após os 5 dias de desafio erosivo, mas o espécime controle foi o que apresentou a segunda menor perda de cálcio e foi o que menos perdeu fósforo. No entanto, a perda imediata desses íons não é o fator mais importante a ser avaliado, uma vez que interessa saber se ao longo do tempo, com a retomada de um ambiente menos ácido, o tecido é capaz de recuperar estes minerais.

Neste sentido, a avaliação de EDS da etapa 3 mostrou resultado surpreendente quanto à recuperação do cálcio e fósforo. No caso do cálcio, houve aumento da sua porcentagem em todos os espécimes após o armazenamento em saliva artificial por 7 dias (2 a 346%), sendo que a ordem

decrecente de aumento deste elemento nos espécimes de acordo com o tratamento de superfície foi: FL (346%) > F (146%) > L (57%) > LF (10%) > C (2%).

Assim, os espécimes que mais tinham perdido cálcio da etapa 1 para a 2, foram os que mais recuperaram este elemento após o armazenamento em saliva artificial. Isso significa que o espécime que recebeu o tratamento de superfície FL foi o que mais recuperou a concentração de cálcio após o armazenamento em saliva artificial por 7 dias e, o que não recebeu tratamento superficial (C), foi o que menos recuperou.

Já no caso do fósforo, houve aumento da sua porcentagem entre as etapas 2 e 3, nos espécimes tratados com F, LF e FL, sendo que o espécime FL, apresentou aumento muito mais significativo do que os que receberam os outros tratamentos de superfície, assim como ocorreu no caso do cálcio. A ordem de ganho de fósforo foi: FL (643%) > LF (98%) > F (25%). Nos espécimes C e L, houve diminuição da porcentagem de fósforo durante o período de armazenamento em saliva artificial por 7 dias (etapa C), sendo que no espécime C esta diminuição foi de 28% e, no L, de 14%.

Vale ressaltar que, através desta análise, observou-se que o tratamento de superfície não foi capaz de reduzir a perda de cálcio e fósforo imediatamente após os 5 dias de desafio erosivo em relação ao espécime controle. No entanto, parece que o tratamento de superfície relacionou-se mais à capacidade de recuperação do cálcio e fósforo após os 7 dias de armazenamento em saliva artificial, já que houve grande diferença na recuperação destes elementos químicos após este período entre os espécimes que receberam algum tratamento e o controle. O espécime controle foi o que apresentou os piores resultados quanto à recuperação do níveis de cálcio e fósforo e, o espécime FL, foi o que apresentou os melhores resultados.

Ainda que tenha havido recuperação dos níveis de cálcio e fósforo, é importante ressaltar que, em nenhum dos espécimes, a porcentagem de cálcio e fósforo na etapa 3 ficou próxima dos níveis destes elementos na dentina hígida (etapa 0).

Comparando-se os resultados obtidos na perfilometria com os obtidos no EDS, percebe-se que o maior ganho de cálcio e fósforo não se relacionou diretamente com menor perda de estrutura. Um exemplo é que o

espécime FL, que mais recuperou os níveis de cálcio e fósforo, não foi o que apresentou a menor porcentagem de perda de estrutura da etapa 2 para a etapa 3 (Quadro 3).

Como a perfilometria não evidenciou aumento da estrutura dentinária após a remineralização ocorrida na dentina erodida, evidenciada pelo EDS, reforça-se a hipótese de que a camada de colágeno desmineralizado não tenha permanecido sobre a superfície dentinária. Isso porque a remineralização do colágeno desmineralizado teria que resultar em ganho de estrutura dentinária.

Como a maioria dos estudos publicados nesta área apenas quantificam a perda de estrutura dentária (Field et al., 2010), decidiu-se fornecer uma complementação qualitativa destes resultados através do MEV, o qual foi uma das primeiras técnicas a serem utilizadas para medir a reabsorção de tecidos dentários duros *in vitro* e ainda é amplamente utilizado atualmente (Ferrazzano et al., 2008; Naylor et al., 2006; Schmidlin et al., 2003): As imagens de MEV deste estudo foram capazes de explicar alguns dos resultados quantitativos obtidos na perfilometria e EDS.

Tendo em vista os resultados obtidos neste estudo através das diversas análises, percebe-se que há a necessidade de se realizar estudo para avaliar diariamente a perda de estrutura dentinária em intervalos de tempo de desafio erosivo mais prolongados, para que se possa chegar à conclusão de qual é a real durabilidade dos efeitos desses tratamentos de superfície. Isso é importante para que o profissional sugira os retornos periódicos adequados para repetição do procedimento preventivo no paciente e até para se avaliar a real viabilidade de realização desses tratamentos preventivos uma vez que, se forem necessários intervalos de retorno muito curtos, o tratamento torna-se financeiramente inviável para o paciente.

7 CONCLUSÕES

- Após o desafio erosivo, todos os tratamentos reduziram a perda dentinária, exceto o verniz de flúor;
- Após a erosão seguida de 7 dias de armazenamento, todos os tratamentos perderam a efetividade, exceto o laser de Nd:YAG;
- Nenhum dos tratamentos deteve a perda de cálcio e fósforo por erosão;
- Todos os tratamentos favoreceram a remineralização da superfície dentinária erodida.
- A análise morfológica não foi conclusiva.

8 REFERÊNCIAS*

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil.* 1999 Aug;26(8):624-30.

Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol.* 2001 Aug;46(8):697-703.

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

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

Austin RS, Rodriguez JM, Dunne S, Moazzez R, Bartlett DW. The effect of increasing sodium fluoride concentrations on erosion and attrition of enamel and dentine in vitro. *J Dent.* 2010 Oct;38(10):782-7.

Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Human enamel erosion in constant composition citric acid solutions as a function of degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *J Oral Rehabil.* 2005 Jan;32(1):16-21.

Bassiouny MA, Yang J. Influence of drinking patterns of carbonated beverages on dental erosion. *Gen Dent.* 2005 May-Jun;53(3):205-21.

*Baseado em:

Internacional Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2003 Oct;111(5):428-33.

Birang R, Poursamimi J, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hypersensitivity treatment. *Lasers Med Sci.* 2007 Mar;22(1):21-4.

Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RMG, Mendes FM, Eduardo CP, et al. In vitro Evaluation of Enamel Demineralization after Er:YAG and Nd:YAG Laser Irradiation on Primary Teeth. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):85-90.

Ciaramicoli MT, Carvalho RC, Eduardo CP. Treatment of cervical dentin hypersensitivity using neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser. Clinical evaluation. *Lasers Surg Med.* 2003;33(5):358-62.

Eisenburger M, Addy M. Evaluation of pH and erosion time on demineralisation. *Clin Oral Investig.* 2001 Jun;5(2):108-11.

Erickson PR, Alevizos DLA. Soft drinks: Hard on teeth. *Northwest Dent.* 2001 Apr;80(2):15-9.

Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in Dentistry. Copenhagen: Munksgaard; 1996.

Ferrazzano GF, Cantile T, Quarto M, Ingenito A, Chianese L, Addeo F. Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization in vitro. *Aust Dent J.* 2008 Dec;53(4):314-9.

Field J, Waterhouse P, German M. Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *J Dent.* 2010 Mar; 38(3):182-90.

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

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.* 2004b Nov;49(11):931-5.

Ganss C, Lussi A. Diagnosis of erosive tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006, 20:32-43.

Ganss C, Lussi A, Klimek J. Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralization. *Caries Res.* 2005 May-Jun;39(3):178-84.

Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J. Efficacy of waiting periods and topical fluoride treatment on toothbrush abrasion of eroded enamel in situ. *Caries Res.* 2007a;41(2):146-51.

Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J. Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions- A comparison of in vitro and in situ results. *Arch Oral Biol.* 2007b Jan;52(1):9-14.

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: a comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res.* 2008 Nov;42(1):2-7.

Gedalia I, Dakuar A, Shapira L, Lewinstein I, Goultschin J, Rahamim E. Enamel softening with Coca-Cola and rehardening with milk or saliva. *Am J Dent.* 1991 Jun;4(3):120-2.

Gelskey SC, White JM, Pruthi VK. The effectiveness of the Nd:YAG laser in the treatment of dental hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.* 1993 Apr;59(4):377-86.

Gohring TN, Zehnder M, Sener B, Schmidlin PR. In vitro microleakage of adhesive-sealed dentin with lactic acid and saliva exposure: a radio-isotope analysis. *J Dent.* 2004 Mar;32(3):235-40.

Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. *J Dent.* 1999 Jul;27(5):333-9.

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

Hannig M, Fiebiger M, Güntzer M, Döbert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. Arch Oral Biol. 2004 Nov;903(11)-10.

Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. Arch Oral Biol. 2005 Jun;50(6):541-52.

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

Hara AT, Gonzalez-Cabezas C, Creeth J, Zero DT. The effect of human saliva substitutes in an erosion-abrasion cycling model. Eur J Oral Sci. 2008 Dec;6(6):552-6.

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

Heurich E, Beyer M, Jandt KD, Reichert J, Herold V, Schnabelrauch M, Sigusch BW. Quantification of dental erosion – A comparison of stylus profilometry and confocal laser scanning microscopy (CLSM). Dent Mater. 2010 Apr;26(4):326-36.

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.

Hsu P, Chen JH, Chuang F, Roan R. The combined occluding effects of fluoride-containing dentin desensitizer and Nd:YAG laser irradiation on human dentinal tubules: an *in vitro* study. Kaohsiung Med Sci. 2006 Jan;22(1):24-8.

Hughes JA, Jandt KD, Baker N, Parker D, Newcombe RG, Eisenburger M, et al. Further modification to soft drinks to minimise erosion. A study in situ. Caries Res. 2002 Jan-Feb;36(1):70-4.

Ipci SD, Cakar G, Kuru B, Yilmaz S. Clinical evaluation of lasers and sodium fluoride gel in the treatment of dentine hypersensitivity. Photomed Laser Surg. 2009 Feb;27(1):85-91.

Kameyama A, Koga H, Takizawa M, Takaesu Y, Hirai Y. Effect of Er:YAG laser irradiation on acid resistance to bovine dentin in vitro. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2000 May;41(2):43-8.

Kinney SH, Balooch M, Haript DL Jr, Marshall GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res* 1995 May;74(5):1179-84.

Kivanç BH, Ulusoy OIA, Görgül G. Effects of Er:YAG laser and Nd:YAG laser treatment on the root canal dentin of human teeth: a SEM study. *Lasers Med Sci*. 2008 Jul;23(3):247-52.

Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res*. 2006;40(2):148-53.

Lan WH, Liu HC. Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg*. 1996 Apr;14(2):89-92.

Lewinstein I, Ofek L, Gedalia I. Enamel rehardening by soft cheeses. *Am J Dent*. 1993 Feb;6(1):46-8.

Litonjua LA, Andreana S, Bush PJ, Cohen RE. Tooth wear: attrition, erosion and abrasion. *Quintessence Int*. 2003 Jun;34(6):435-46.

Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod*. 1997 Nov;23(11):691-3.

Lussi A. Erosive tooth wear – a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci*. 2006;20:1-8.

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

Lussi A, Hellwig E. Risk assessment and preventive measures. *Monogr Oral Sci*. 2006;20:109-9.

Magalhães AC, Levy FM, Rios D, Buzalaf MAR. Effect of a single application of TiF_4 and NaF varnishes and solutions on dentin erosion *in vitro*. J Dent. 2010 Feb;38(2):153-7.

Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Jorge AM Jr, Delbem ACB, Buzalaf MAR. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on dental erosion by a soft drink: an *in situ/ex vivo* study. Arch Oral Biol. 2008a May;53(5):399-404.

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

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MAR. Insights into preventive measures for dental erosion. J Appl Oral Sci. 2009 Mar-Apr;17(2):75-86.

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

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Effect of various Ca^{+2}/PO_4^{3-} concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel *in vitro*. J Oral Rehabil. 2006 Oct;33(10):760-6.

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

Naylor F, Aranha ACC, Eduardo CP, Arana-Chavez VE, Sobral MAP. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acidic beverages. Photomed Laser Surg. 2006 Dec;24(6):745-53.

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(5):411-26.

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

O'Sullivan EA, Curzon MEJ. Salivary factors affecting dental erosion in children. *Caries Res.* 2000 Jan-Feb;34(1):82-7.

Prati C, Montebugnoli L, Suppa P, Valde G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. *J Periodontol.* 2003 Apr;74(4):428-36.

Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Buzalaf MA, Pamla-Dibb RG, Machado MA, et al. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an in situ study. *Braz Oral Res* 2006 Apr-Jun;20(2):148-54.

Rios D, Magalhães AC, Polo RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc.* 2008 Dec;139(12):1652-6.

Sales-Peres SHC, Pessan JP, Buzalaf MAR. Effect of an iron mouthrinse on enamel and dentine erosion subjected or not to abrasion: an in situ/ex vivo study. *Arch Oral Biol.* 2007 Feb;52(2):128-32.

Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res.* 1988 Dec;96(2):523-35.

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.* 2009;43(1):10-16.

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

Schmidlin PR, Gohring TN, Schug J, Lutz F. Histological, morphological, profilometric and optical changes of human tooth enamel after microabrasion. *Am J Dent.* 2003 Sep;16:4A-8A.

Simpson A, Shaw L, Smith AJ. Tooth surface pH during drinking of black tea. *Br Dent J.* 2001 Apr;190(7):374-6.

Sognaes RF, Stern RH. Laser effect on resistance of human dental enamel to demineralization in vitro. *J South Calif Dent Assoc.* 1965 Aug;33:328-9.

Souza JG, Rachel ID, Pereira AFF, Silva TC, Rios D, Machado MAAM, et al. Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion in vitro. *J Oral Sci.* 2010;4(4):553-9.

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

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

Ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci.* 1997 Oct;105(5 Pt 2):461-5.

Thystrup A, Fejerskov O. *Cariologia Clínica*. São Paulo: Santos; 2001.

Vieira A, Jager DHJ, Ruben JL, Huysmans MC. Inhibition of Erosive Wear by Fluoride Varnish. *Caries Res.* 2007;41(1):61-7.

Vieira A, Overweg E, Ruben JL, Huysmans MC. Toothbrush abrasion, simulated tongue friction and attrition of eroded bovine enamel in vitro. *J Dent.* 2006 May;34(5):336-42.

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

Vlacic J, Meyers IA, Kim J, Walsh LJ. Laser-activated fluoride treatment of enamel against an artificial caries challenge: comparison of five wavelengths. *Aust Dent J.* 2007a Jun;52(2):101-5.

Vlacic J, Meyers IA, Walsh LJ. Laser-activated fluoride treatment of enamel as prevention against erosion. *Aust Dent J.* 2007b Sep;2(3):175-80.

Wang X, Klocke A, Mihailova B, Tosheva L, Bismayer U. New insights into structural alteration of enamel apatite induced by citric acid and sodium fluoride solutions. *J Phys Chem B.* 2008 Jul;112(29):8840-8.

Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T. Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? *J Oral Rehabil.* 2008 May;35(5):390-4.

Westerman GH, Flaitz CM, Powell GL, Hicks MJ. Enamel caries initiation and progression after argon laser irradiation: in vitro argon laser systems comparison. *J Clin Laser Med Surg.* 2002 Oct;20(5):257-62.

West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil.* 2000 Oct;27(10):875-80.

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

Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med (Lond).* 2007 May;57(3):169-76.

Wiegand A, Egert S, Attin T. Toothbrushing before or after an acidic challenge to minimize toothwear? An in situ/ ex vivo study. *Am J Dent.* 2008a Feb;21(1):13-6.

Wiegand A, Laabs KA, Grebmann G, Roos M, Magalhães AC, Attin T. Protection of short-time enamel erosion by different tetrafluoride compounds. *Arch Oral Biol.* 2008b Jun;53:497-502.

Wiegand A, Magalhães AC, Sener B, Waldheim E, Attin T. TiF_4 and NaF at pH 1.2 but not at pH 3.5 are able to reduce dentin erosion. *Arch Oral Biol.* 2009 Aug;54(8):790-5.

Wiegand A, Meier W, Sutter E, Magalhães AC, Becker K, Roos M, et al. Protective effect of different tetrafluorides on erosion of pellicle-free and pellicle-covered enamel and dentine. *Caries Res.* 2008c;42(4):247-54.

Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Ziebolz D, et al. Impact of toothpaste slurry abrasivity and toothbrush filament stiffness on abrasion of eroded enamel – an in vitro study. *Acta Odontol Scand.* 2008d Aug;66(2):231-5.

Zapletalová Z, Perina J, Novotny R, Chmelickova H. Suitable Conditions for Sealing of Open Dentinal Tubules Using a Pulsed Nd:YAG Laser. *Photomed Laser Surg.* 2007 Dec;25(6):495-9.

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

Zezell DM, Boari HGD, Ana PA, Eduardo CP, Powell GL. Nd:YAG Laser in Caries Prevention: A Clinical Trial. *Lasers Surg Med.* 2009 Jan;41(1):31-5

APÊNDICE A- Valores de microdureza Knoop (em HK) para padronização dos espécimes.

Quadro 5 - Valores de microdureza Knoop (em HK) para padronização dos espécimes.

(continua)

Indentação 1	Indentação 2	Indentação 3	Média
62,1	74,57	106,32	80,99667
39,68	33,89	53,26	42,27667
47,73	50,73	44,41	47,62333
69,83	94,68	100,25	88,25333
47,41	49,7	54,02	50,37667
39,44	27,81	18,8	28,68333
22,39	29,75	32,78	28,30667
77,78	58,92	55,98	64,22667
107,39	93,8	79,12	93,43667
50,73	62,1	46,79	53,20667
81,2	70,98	66,06	72,74667
54,4	56,8	65,54	58,91333
104,24	58,06	87,16	83,15333
45,87	41,69	45,87	44,47667
81,2	76,47	89,56	82,41
47,73	44,7	44,41	45,61333
64,03	52,51	67,11	61,21667
87,95	79,12	90,39	85,82
80,5	55,58	54,79	63,62333
46,48	49,03	50,73	48,74667
48,37	35,88	40,17	41,47333
61,17	62,58	65,54	63,09667
77,78	76,47	77,12	77,12333
58,92	59,36	61,17	59,81667
92,07	89,56	94,68	92,10333
56,39	74,57	69,28	66,74667
36,51	39,68	46,79	40,99333
48,7	54,4	45,87	49,65667
58,92	43,57	50,04	50,84333
53,63	69,28	60,71	61,20667
48,7	48,37	53,26	50,11
38,05	34,67	31,38	34,7
39,21	37,82	60,91	45,98
38,74	45,28	44,41	42,81
28,1	26,19	28,83	27,70667
48,05	67,11	73,35	62,83667
50,04	53,63	66,58	56,75
39,44	40,17	36,51	38,70667
51,79	58,06	55,18	55,01
47,73	40,67	60,71	49,70333
27,95	31,55	22,91	27,47
32,42	33,7	25,31	30,47667
58,06	46,79	50,73	51,86
54,02	50,38	58,06	54,15333
42,48	36,72	47,1	42,1
42,75	49,36	46,48	46,19667
24,82	46,48	34,08	35,12667
34,08	33,14	31,38	32,86667
27,12	38,74	28,24	31,36667
43,29	38,74	52,88	44,97
39,44	40,17	38,05	39,22
43,57	43,85	53,63	47,01667
37,6	46,79	51,79	45,39333

Quadro 5 - Valores de microdureza Knoop (em HK) para padronização dos espécimes.

(conclusão)

67,64	66,06	61,63	65,11
55,58	80,5	71,56	69,21333
29,75	41,95	32,24	34,64667
66,06	59,36	75,83	67,08333
43,85	38,51	39,44	40,6
70,41	84,85	70,98	75,41333
42,21	46,18	47,73	45,37333
49,03	51,43	47,41	49,29
70,41	67,64	57,22	65,09
46,48	53,26	54,4	51,38
73,35	62,1	39,93	58,46
59,36	53,63	49,7	54,23
40,42	47,41	45,87	44,56667
28,39	27,39	32,78	29,52
35,27	51,43	58,06	48,25333
74,57	41,95	48,05	54,85667
52,15	67,11	65,54	61,6
42,48	48,37	46,48	45,77667
39,93	45,87	38,97	41,59
31,04	30,87	38,28	33,39667
48,05	33,14	48,05	43,08
37,16	41,69	37,16	38,67
68,73	56,39	38,51	54,54333
58,06	42,48	48,05	49,53
77,78	52,15	68,18	66,03667
43,57	37,6	44,99	42,05333
38,05	32,78	42,48	37,77
43,57	30,55	28,39	34,17
67,11	45,87	59,36	57,44667
36,72	41,95	31,38	36,68333
55,58	42,48	37,6	45,22
34,28	43,29	52,15	43,24
40,42	42,21	41,17	41,26667
30,55	52,15	29,9	37,53333
49,03	43,85	40,67	44,51667
48,05	45,58	46,18	46,60333
78,45	59,36	48,05	61,95333
67,64	40,67	56,39	54,9
58,49	48,7	49,36	52,18333
59,36	68,73	49,36	59,15
55,58	44,41	62,58	54,19
74,57	60,71	40,92	58,73333
31,55	32,42	91,22	51,73
61,63	63,06	59,81	61,5
39,93	49,03	45,28	44,74667
40,92	30,55	36,51	35,99333
36,51	50,73	31,55	39,59667
38,74	34,28	32,42	35,14667
67,64	69,84	60,25	65,91
68,73	63,06	55,58	62,45667
52,88	39,68	41,17	44,57667
35,47	30,22	35,67	33,78667
41,69	73,96	53,63	56,42667
73,35	39,93	57,64	56,97333
41,17	38,97	35,07	38,40333
46,48	36,51	41,95	41,64667
30,06	51,79	54,4	45,41667

APÊNDICE B- Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura.

Quadro 6 - Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura.

(continua)

Tratamento superfície	Etapa	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Controle	1	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	0	0	0	
	2	3,68	4,73	5,3
		3,63	2,31	7,71
		2,20	2,37	2,00
		3,62	4,2	2,38
		3,22	5,95	4,79
		3,05	1,87	3,35
		3,47	2,42	3,59
		4,42	3,15	5,61
		7,12	6,30	6,10
		1,89	4,93	3,33
		5,84	7,18	6,54
	5,13	5,36	7,21	
	3	6,72	6,06	6,31
		4,77	9,17	11,97
		2,5	5,00	3,95
		8,88	8,29	8,54
		7,22	8,55	4,34
		5,08	4,99	5,36
		7,82	8,57	5,88
5,08		7,23	8,82	
8,42		7,45	6,57	
1,73		2,58	2,47	
8,11		9,48	12,98	
6,63	8,03	8,84		

Quadro 6 - Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura.

(continuação)

Tratamento superfície	Etapa	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Flúor	1	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	2	5,49	4,73	5,83
		3,65	3,18	4,26
		2,63	4,08	4,57
		5,66	6,21	6,36
		9,47	5,08	6,44
		2,21	6,93	3,95
		6,32	3,32	5,52
		10,13	10,42	7,31
		4,42	4,03	1,66
		5,26	5,74	6,97
		12,27	8,56	7,63
		2,25	1,87	3,94
	3	7,68	7,56	7,17
		6,05	5,56	7,75
		12,11	8,55	8,16
		4,08	3,26	6,58
		8,38	9,10	8,69
		8,29	2,77	3,79
		7,63	7,24	6,84
		9,02	9,76	11,78
		6,12	4,10	7,67
11,45		12,78	3,63	
7,88		3,02	7,36	
10,25		13,38	12,89	

Quadro 6 - Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura.

(continuação)

Tratamento superfície	Etapa	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Laser	1	0	0	1,19
		0	0	1,08
		0	1,42	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		1,47	0	0
		0	1,93	1,40
		0	1,87	1,61
		0	0	0
	2	1,92	1,73	2,12
		3,26	2,88	5,63
		2,26	4,47	4,35
		0,92	3,66	2,15
		3,15	4,95	5,53
		4,83	2,42	4,68
		1,94	2,94	2,36
		1,98	3,25	3,89
		3,49	3,26	3,19
		1,60	2,88	2,19
		3,31	1,52	2,56
		5,36	3,89	6,26
	3	2,39	2,20	1,61
		6,22	6,32	6,05
		8,3	7,23	7,89
		3,09	2,63	2,84
		7,33	6,98	8,02
		3,83	3,78	3,29
		2,21	3,30	5,38
		4,31	4,19	3,84
		4,85	4,32	5,20
3,73		4,34	3,09	
2,93		2,03	2,84	
8,43		5,28	8,64	

Quadro 6 - Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura.

(continuação)

Tratamento superfície	Etapa	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Laser + Flúor	1	1,36	0,89	0
		0	0,36	1,3
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		1,04	0	0
		0,81	0,76	0
		0	0	0
		0,70	0	0
		0	0	0
		1,24	0	0,53
		0,84	0	0
	2	4,74	3,66	4,94
		5,01	3,57	5,22
		9,35	4,47	4,17
		3,57	3,15	2,67
		4,82	5,73	2,72
		3,89	1,78	3,34
		5,34	4,65	3,77
		5,23	4,86	4,18
		3,71	3,45	6,04
		6,95	5,03	2,95
		2,46	1,58	4,74
		6,84	7,10	6,36
	3	7,68	7,56	7,17
		6,05	5,56	7,75
		12,11	8,55	8,16
		4,08	3,26	6,58
		8,38	9,10	8,69
		8,29	2,77	3,79
		7,63	7,24	6,84
		9,02	9,76	11,78
		6,12	4,10	7,67
11,45		12,78	3,63	
7,88		3,02	7,36	
10,25		13,38	12,89	

Quadro 6 - Resultados parciais das 3 leituras em rugosímetro (em μm) para cada etapa previamente à obtenção da média de perda de estrutura.

Tratamento superfície	Etapa	(conclusão)		
		Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3
Flúor + Laser	1	0	0	0
		4,32	1,52	0,90
		0	0	0
		1,44	1,16	0
		0	1,55	1,24
		1,31	2,34	0
		0	0	0
		0	0	0,65
		0	0	0
		0	0	0
		1,22	0	0
		1,28	0	0
		3,54	2,25	9,60
	4,42	6,70	4,71	
	4,72	5,08	4,62	
	4,78	6,79	4,97	
	6,55	6,31	7,50	
	6,70	4,94	4,16	
	3,33	3,18	2,57	
	4,63	4,04	4,64	
	5,79	7,75	9,73	
	2,63	8,24	7,10	
	4,17	4,26	4,77	
	5,29	3,46	5,00	
	5,35	5,79	4,69	
	5,65	13,42	11,53	
	8,59	5,13	7,3	
	10,09	10,54	10,75	
	13,43	11,44	10,13	
	6,19	5,27	6,45	
	10,00	7,86	7,20	
	7,60	12,62	7,99	
	12,95	11,84	6,57	
	5,79	13,74	9,67	
	8,81	6,01	9,70	
	5,92	8,42	9,47	

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Cos. Fernando José Campos, 777 - 13.500-000
FONE (011) 4009-1111 - F. (12) 247-5900/110066
fax (12) 247-5900/110066/110066@fod.usjcamsp.br | yasmin@fod.usjcamsp.br

**Comitê de Ética em Pesquisa-Local
Envolvendo animais**

São José dos Campos, 13 de abril de 2011

Ofício nº 02/2011/CEPa

Prezada Senhora

Esclarecemos que não há necessidade do projeto intitulado **“Efeito do laser Nd:YAG e do fluoreto de sódio sobre a dentina bovina submetida a um desafio erosivo: perfilometria, MEV e EDS”** de sua responsabilidade, tendo como Orientadora, Prof. Titula MARIA AMÉLIA MÁXIMO DE ARAÚJO, ser analisado por este Comitê, porque a pesquisa em tela não envolve a utilização de vertebrados e sim o uso de dentes bovinos como substrato comercialmente disponível, de acordo com a Lei nº 11.794 de 08/10/2008 – Lei “Arouca”.

Atenciosamente,


Prof. Titular YASMIN RODARTE CARVALHO
Coordenadora

Sra. FERNANDA BRANDÃO MOLLICA
Aluna de Doutorado do Programa de
Odontologia Restauradora da
Unesp-Campus de SJCampos
