



AUTARQUIA ASSOCIADA A UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**Análise *in vitro* da progressão de lesões de erosão em dentina  
após irradiação com laser de Nd:YAG e flúor através de  
Tomografia por Coerência Óptica (OCT)**

**MARCIA CRISTINA DIAS DE MORAES**

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do grau de  
Mestre Profissional na área de Lasers  
em Odontologia

Orientadora:

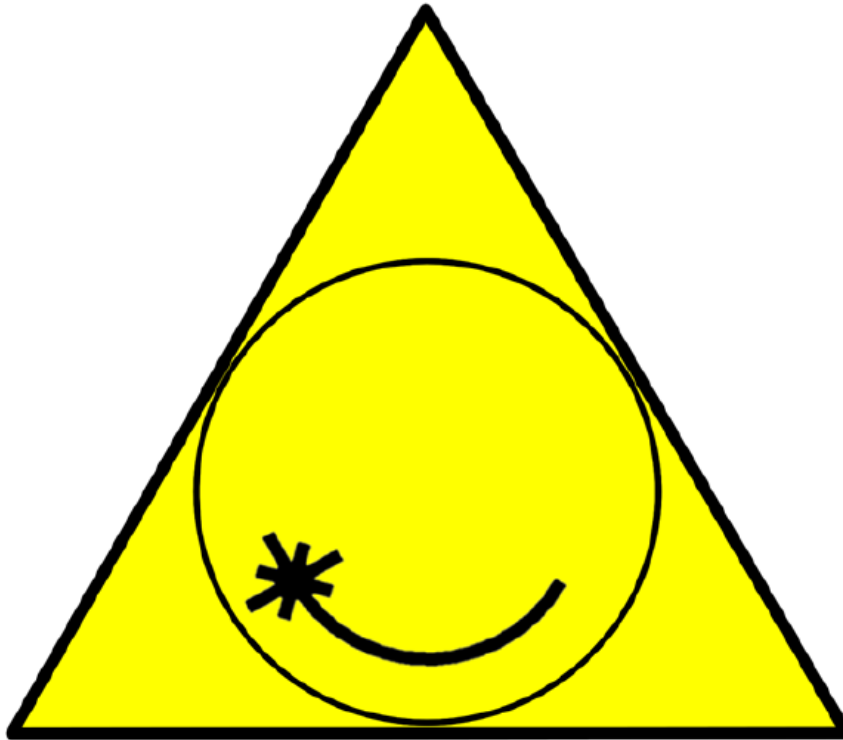
Prof. Dra Ana Cecília Corrêa Aranha

Co-Orientador:

Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas

São Paulo  
2012





MESTRADO PROFISSIONALIZANTE LASERS  
EM ODONTOLOGIA

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**Análise *in vitro* da progressão de lesões de  
erosão em dentina após irradiação com laser  
de Nd:YAG e flúor através de Tomografia por  
Coerência Óptica (OCT)**

**MARCIA CRISTINA DIAS DE MORAES**

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do grau  
de Mestre Profissional na área de  
Lasers em Odontologia

Orientadora:

Prof. Dra Ana Cecília Corrêa Aranha

Co-Orientador:

Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas

São Paulo  
2012

*"Conheça todas as teorias,  
domine todas as técnicas, mas ao  
tocar uma alma humana, seja apenas  
outra alma humana."*

*(Carl Gustav Jung)*

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

Ao meu marido, Paulo Ney, que desde sempre acreditou em mim; que mais uma vez colocou meus sonhos e necessidades acima das suas próprias, sempre oferecendo apoio, amor, carinho e amizade; e por ter suportado a minha ausência durante o curso. Não sei quem eu seria sem você ... e provavelmente não teria conseguido sem você.

Às minhas filhas, Priscilla e Thaísa, por serem meninas (mulheres já ...) com as quais posso contar, com suas personalidades fortes, responsáveis com suas obrigações e estudos, permitindo que eu deixasse um pouco de lado as minhas tarefas de mãe. Mais amigas do que filhas, amores da minha vida!

Aos meus pais, referências de honestidade, caráter e determinação durante toda a minha vida. Pontos de apoio sempre que foi preciso, só Deus sabe os sacrifícios feitos durante a minha formação e de meus irmãos.

Aos meus irmãos, só por eu saber que estão ali sempre e para o que for preciso.

À minha prima, Sonia Dias, por me receber após anos de afastamento com tanto carinho em seu "cafofo", amenizando com sua alegria e amizade as saudades de casa!

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cecília Côrrea Aranha, tão jovem e tão competente, pela dedicação, disponibilidade, paciência e amor com que atende aos seus alunos. Muito obrigada pela ajuda para a realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas, por ter aceitado este desafio (pelo menos para mim), pela sua paciência, tolerância e bom humor perante as minhas infundáveis dúvidas e limitações.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise Maria Zezell, que consegue diminuir a ignorância de nós, dentistas, nos assuntos da Física, sempre nos estimulando a evoluir.

A todos os professores do Mestrado Profissionalizante de Lasers em Odontologia, do CLA e do LELO, pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade cultivada durante o curso.

À Elsa Papp, pela ajuda e simpatia durante o curso, em todos os momentos em que foi preciso, exemplo de elegância e competência.

À Liliane de Sousa, secretária, amiga, mãe de todos nós. Sempre alegre e disposta a ajudar no que for e no que não for possível.

À Gerusa e Elaine, obrigada pela simpatia e carinho.

Às minhas amigas do Mestrado, Jana, Carol, Lúcia, Mariella e Lúcia Regina, pelo carinho, pelas risadas, pelos chopps necessários depois de muitas horas de estudo. Que a nossa amizade continue durante toda a vida, e que cada vez fique mais forte.

Aos amigos do Mestrado, Tiago, Claudir, Fabiano e Eduardo, pela companhia, pelos estudos na biblioteca, e (também) pelos chopps de confraternização.

Aos meus amigos Rosângela Gelly e Marcelo Knust, pela ajuda com algoritmos, integrais e coisas deste gênero.

A todos que, de uma forma ou outra, colaboraram para mais esta etapa em minha vida.

**ANÁLISE *IN VITRO* DA PROGRESSÃO DE LESÕES DE EROÇÃO EM DENTINA  
APÓS IRRADIAÇÃO COM LASER DE ND:YAG E FLÚOR ATRAVÉS DE  
TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA (OCT)**

**Marcia Cristina Dias de Moraes**

**RESUMO**

Este estudo teve como objetivo avaliar através da Tomografia por Coerência Óptica (OCT) a progressão de lesões de erosão em dentina *in vitro* após a irradiação com laser de Nd:YAG e aplicação tópica de flúor em 120 amostras de dentina, com dimensões de 4 x 4 x 2 mm, extraídas de incisivos bovinos. As amostras foram protegidas com verniz ácido resistente, com exceção da área circular central de 2 mm de diâmetro, e separadas em 8 grupos (n=15). Todas as amostras foram submetidas a ciclagens ácidas com solução de ácido cítrico 0,05M (Ácido cítrico monohidratado – C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>.H<sub>2</sub>O); M=210,14g/mol) pH 2,3 em temperatura ambiente, durante 20 minutos, 2 vezes ao dia, ao longo de 20 dias. Após 10 dias de desafios ácidos, com as lesões erosivas visíveis, cada grupo recebeu um tratamento diferente, sendo: um grupo controle (sem tratamento), um grupo Flúor (aplicação tópica de fluoreto de sódio 2%-por 4 minutos); três grupos Laser de Nd:YAG, irradiação em contato (1 W, 0,7 W e 0,5 W); e três grupos tratados associando-se o flúor aos parâmetros de irradiação dos grupos Laser. As leituras por OCT foram realizadas no dia 1, antes do primeiro desafio ácido (OCT1), no dia 05 (OCT2), no dia 10 (OCT3), no dia 15 (OCT4), no dia 17 (OCT5) e no dia 20 (OCT6). As imagens de OCT possibilitaram a medição da quantidade de tecido dentário perdido ao longo dos 20 dias, antes e depois dos tratamentos, e o acompanhamento precoce da progressão da desmineralização nas amostras. Após análise estatística, foi visto que o grupo flúor foi o que apresentou menor perda de tecido dentário ao longo do tempo. Um grande aumento da área de perda foi observado nos grupos laser na primeira leitura após as irradiações. A técnica de OCT mostrou-se promissora para o diagnóstico e acompanhamento de lesões de erosão, porém mais pesquisas são necessárias para a adequação de seu uso tanto *in vitro* como *in vivo*.

Palavras-chave: erosão, laser de Nd:YAG, tomografia por coerência óptica.

**IN VITRO ANALYSIS OF EROSION PROGRESSION IN  
DENTINE LESIONS AFTER LASER IRRADIATION OF Nd: YAG AND  
FLUORIDE USING OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY (OCT)**

**Marcia Cristina Dias de Moraes**

**ABSTRACT**

This study aimed to assess by Optical Coherence Tomography (OCT) the progression of lesions in dentin erosion in vitro after irradiation with laser Nd: YAG laser at different parameters and topical fluoride. Were used 120 samples of dentin, with dimensions of 4 x 4 x 2 mm, extracted from bovine incisors. The samples were protected with varnish acid resistant, with exception of the circular area central 2 mm diameter, and separated in 8 groups (n = 15). All samples were submitted to cycling erosive caused by citric acid solution 0.05 M (Citric acid monohydrate - C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>.H<sub>2</sub>O); M= 210.14 g / mol) pH 2.3 at room temperature, during 20 minutes, 2 times a day, throughout 20 days. After 10 days of challenges acids, when the lesions erosive became visible, each group received a different treatment, which: a control group (without any treatment), a group Fluorine treated with topical application of Fluoride (sodium fluoride 2%) during 4 minutes; three groups Laser Nd:YAG treated with different irradiation parameters, in contact (1 W, 0.7 W and 0.5 W); and three treated groups associating the fluorine to the parameters of irradiation of Laser groups. Readings by OCT were performed on day 1 before the first acid challenge (OCT1), on day 05 (OCT2), day 10 (OCT3), day 15 (OCT4), day 17 (OCT5) and on day 20 (OCT6). The images generated by OCT enabled measuring the amount of tooth tissue lost over the 20 days, before and after treatments, and also an early monitoring of progression of demineralization in the samples. After statistical analysis, was observed that the group fluorine was what showed loss of smaller tooth tissue over time. A large increase in the area of loss was observed in groups on the first reading after laser irradiation. The OCT technique has shown promise for the diagnosis and monitoring of erosion damage, but more research is needed to the appropriateness of its use both *in vitro* and *in vivo*.

Key-words: erosion, Nd:YAG laser, optical coherence tomography



## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	OBJETIVOS	15
3.	REVISÃO DE LITERATURA	16
	3.1 – Lesões Cervicais Não Cariosas (LCNC)	18
	3.1.1 – Prevalência	17
	3.1.2 – Índices de Classificação	20
	3.2 – Erosão dentária	27
	3.3 – Efeitos dos ácidos sobre os tecidos dentais	31
	3.4 – Flúor	33
	3.5 – Laser de Nd:YAG	36
	3.6 – Associação do flúor e do laser de Nd:YAG	40
	3.7 – Métodos para diagnóstico e controle	41
	3.7.1 – Diagnóstico Óptico	41
	3.8 - OCT	52
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	59
	4.1 – Amostras	60
	4.2 – Desafio erosivo	62
	4.3 – Aplicação de fluoreto de sódio	62
	4.4 – Irradiação das amostras	63
	4.5 - Avaliação da progressão das lesões de erosão por OCT	65
5.	RESULTADOS	69
	5.1 – Perda dentinária nos grupos	72
	5.2 – Análise estatística	81
	5.2.1 – Dados obtidos	81
	5.3 – Imagens OCT	85
6.	DISCUSSÃO	107
7.	CONCLUSÕES	116
8.	TRABALHOS FUTUROS	117
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118

**LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS**

AF – Apatita Fluoretada

AFM – Atomic Force Microscopy

CCD – Couple Charge Device

CLSM – Confocal Laser Scanning Microscopy, usualmente Ar/Kr ou He/Ar

DE = Densidade de Energia

DIFOTI - Digital Fiber Optical Transillumination

DP – Desvio Padrão

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético (do inglês Ethylenediamine tetraacetic acid)

F - Flúor

FAP – fluorapatita

FFA – Flúor Fosfato Acidulado

FOBSS – Fiber Optic Backscatter Spectroscopy Sensor

FOTI – Fiber Optic Transillumination

FO – USP – Faculdade de odontologia da Universidade de São Paulo

fps – frames per second (quadros por segundo)

FTC- $\alpha$  - Fosfato de Tricálcio na fase  $\alpha$

FTC- $\beta$  - Fosfato de Tricálcio na fase  $\beta$

FTeC - Fosfato Tetracálcio

HA, HAP – Hidroxiapatita

He-Ne – Hélio-Neon

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

IPT – Iodide Permeability Test

$\lambda$  - lambda

LCNC – Lesões Cervicais Não Cariosas

LF – Laser-induced Fluorescence

LELO – Laboratório Especial de Lasers em Odontologia

LMR – Longitudinal Microradiography

$\mu\text{m}$  – micrometro

$\mu\text{s}$  - microsegundo

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MRx – Microradiography

NaF2 – Fluoreto de sódio

Nd:YAG – Neodymium-doped yttrium aluminium garnet

NIR – Near InfraRed ( Infravermelho próximo)

nm - nanometro

OCT – Optical Coherence Tomography (Tomografia por Coerência Óptica)

PLM – Polarized Light Microscopy

PM – Potência média

ppm – partes por milhão

PS – OCT – Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography

QLF – Quantitative Light-induced Fluorescence

RGO – Refluxo gastro-esofágico

Sn<sup>++</sup> - Estanho duplamente ionizado

SPM – Scanning Probe Microscopy

Sr<sup>++</sup> - Estrôncio duplamente ionizado

TEM – Transmission Electron Microscopy

TI NIR – Transillumination with Near Infra Red light

TLM – Transmitted Light Microscopy

TMR – Transversal Microradiography

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas uma diminuição substancial e mundial na prevalência da cárie dentária tem sido observada. O uso tópico do flúor para a prevenção da cárie é uma prática consagrada e estabelecida, e com o passar dos anos foi o principal responsável pela diminuição do índice de cáries na população, juntamente com o controle da placa bacteriana e terapias periodontais <sup>1,2</sup>. O flúor atua sobre a superfície dos dentes, tornando-a menos solúvel aos ácidos produzidos pela flora bacteriana, fazendo com que os dentes sejam mais resistentes ao surgimento e ao desenvolvimento de lesões cariosas <sup>3-6</sup>.

Porém, a perda acentuada e patológica de tecido dental causada por processos químicos e mecânicos de desgaste dental passou a chamar a atenção dos profissionais da área da saúde. As lesões comumente denominadas de lesões cervicais não-cariosas (LCNC) passaram a ter fundamental importância durante o diagnóstico, prevenção, e tratamento nos consultórios odontológicos <sup>7,8</sup>.

A atuação precoce e constante dos cirurgiões-dentistas junto aos pacientes, principalmente na sua educação, fez surgir uma população mais consciente da importância da escovação e hábitos corretos para a manutenção da saúde bucal <sup>9</sup>. Além disso, o aumento da longevidade dos dentes no século 21 exigiu dos profissionais de Odontologia habilidades na prevenção e reparação devido aos efeitos clínicos deletérios do desgaste dental, contribuindo para a manutenção dos dentes por mais tempo na cavidade oral. Este fato mudou a atenção de ambas as comunidades, científica e clínica, para o desgaste dental.

Além de uma menor perda de elementos dentários ao longo da vida, a expectativa de vida em si da população aumentou, e pacientes idosos apresentam maior perda fisiológica de tecido dentário <sup>10-13</sup>. Fatores sistêmicos comuns aos idosos passaram também a influenciar a condição dos elementos dentários. O tipo de dieta, a ingestão freqüente de medicamentos que afetam a produção de saliva, e alterações na coordenação motora favorecem o surgimento de lesões cervicais não cariosas <sup>13</sup>, entre outras patologias bucais.

As LCNC surgem a partir do momento em que ocorre a exposição dentinária na região cervical, e são muitas vezes responsáveis pela visita constante dos pacientes aos consultórios odontológicos, principalmente porque em muitos casos estas lesões são acompanhadas de sintomatologia dolorosa, denominada hipersensibilidade dentinária cervical, que vai desde um leve desconforto até a impossibilidade de ingestão de determinadas substâncias<sup>14, 15</sup>. Sendo consenso atualmente que o surgimento das LCNC é resultante da interação de diversos fatores simultaneamente, o diagnóstico e a escolha do tratamento dependerão da correta identificação destes fatores e da existência ou não de sintomatologia dolorosa associada<sup>7, 14 - 17</sup>.

As diferentes formas de perda de tecido dentário, como atrição, abrasão, abfração e erosão, são listadas na Classificação Internacional de Doenças, caracterizando-as como doenças<sup>18</sup>.

A atrição é resultante do contato exagerado entre duas superfícies dentárias antagonicas, alcançando níveis patológicos quando associada a hábitos parafuncionais, principalmente bruxismo<sup>16, 19, 20</sup>. A abrasão é a perda de substância pela ação mecânica de algum objeto ou substância, de forma repetitiva<sup>7, 16, 19</sup>.

A abfração é decorrente de disfunções oclusais, que geram um acúmulo de força na região cervical dos dentes por movimentos oclusais desbalanceados<sup>7, 16, 19, 20</sup>.

Já a erosão caracteriza-se pela perda de estrutura dentária em decorrência de um processo químico, sem envolvimento bacteriano. Os ácidos podem ser provenientes de fontes externas (ex: dieta, medicamentos, ambiente) ou internas (refluxo gastroesofágico, bulimia, úlceras duodenais, vômitos recorrentes por alcoolismo). Este último processo destaca-se pelos altos índices de prevalência e incidência<sup>7, 19, 21 - 23</sup>.



Figura 1: Em um mesmo paciente, lesões de atrição (borda incisal do elemento incisivo central direito), abrasão (cervical do incisivo central direito) e erosão (cervical do incisivo central esquerdo) – (Foto: caso clínico atendido em consultório próprio - 2011)

Muitos estudos na literatura buscam a prevenção das lesões de erosão. Entretanto, clinicamente a grande maioria dos pacientes já chega aos consultórios apresentando lesões que necessitam de tratamento e orientação para que a progressão possa ser controlada ou minimizada. Porém, a colaboração do paciente com relação aos hábitos e dieta é extremamente dificultosa. O clínico precisa avaliar de forma multidisciplinar a correta forma de abordar o problema, o que pode abranger reeducação alimentar, atenção psicológica, aplicação de agentes dessensibilizantes, laserterapia, prescrição de soluções remineralizadoras e, em alguns casos, a restauração das lesões<sup>16, 17, 21 - 24</sup>.

O efeito do flúor sobre a estrutura e estabilidade da porção mineral do dente e sua participação na formação de minerais têm papel bem documentado sobre a prevenção de lesões de cárie<sup>3 - 6</sup> e vem sendo estudado para o tratamento e prevenção de lesões de erosão dental<sup>24 - 26</sup>.

A irradiação com lasers de alta potência nos tecidos dentários é capaz de aumentar a sua resistência ácida, pela modificação estrutural conseguida através do efeito térmico produzido tanto em esmalte como na dentina, com perda de água e carbonatos, e pela incorporação do fluoreto na estrutura do tecido, formando fluorapatita, menos solúvel e formada por cristais maiores e mais estáveis do que a hidroxiapatita<sup>27 - 29</sup>. O laser de Nd:YAG é considerado promissor no aumento da

resistência ácida da dentina, porém faltam protocolos seguros para a prevenção das lesões de erosão<sup>30 - 33</sup>.

Por ser de etiologia multifatorial, o diagnóstico das lesões de erosão é realizado através de exame clínico oral minucioso e estudo detalhado da anamnese do paciente, com especial atenção à análise nutricional, médica e ocupacional, assim como hábitos alimentares<sup>7, 21, 34 - 38</sup>. *In vivo*, não há um dispositivo para um diagnóstico clínico precoce e quantificação das lesões de erosão. Modelos de estudo, índices de silicone e fotografias feitos a intervalos regulares são utilizados para acompanhar clinicamente a progressão das lesões<sup>35</sup>.

A Tomografia por Coerência Óptica (OCT – Optical Coherence Tomography) detecta um sinal de luz espalhada proveniente de diferentes profundidades de uma amostra de tecido. É uma técnica sem contato, que não utiliza radiação ionizante, não invasiva e não destrutiva, o que permite a sua utilização *in vivo*, produzindo imagens de um corte transversal com alta resolução espacial, sendo a leitura realizada em tempo real<sup>39</sup>.

Diante da dificuldade em diagnosticar, tratar e, principalmente, prevenir as lesões de erosão, tão comuns atualmente, este estudo *in vitro*, teve como objetivo avaliar a progressão de lesões de erosão realizadas em dentina, após terapia com laser de Nd:YAG em diferentes parâmetros, flúor e associações, através da Tomografia de Coerência Óptica (OCT).



## **2. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da técnica de Tomografia de Coerência Óptica (OCT) como uma possibilidade de diagnóstico e acompanhamento da progressão das lesões de erosão em dentina após terapia com laser de Nd:YAG em diferentes parâmetros e flúor, assim como comparar a eficácia destas terapias.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Lesões Cervicais Não Cariosas (LCNC)

As LCNC são resultantes da exposição de dentina após a remoção do esmalte dentário ou da dissolução do cemento radicular, sem envolvimento bacteriano <sup>7 - 10, 16</sup>. São divididas em abrasão, abfração e erosão.

A abrasão resulta do efeito repetitivo de substâncias ou objetos sobre a superfície dentária, e geralmente é decorrente de hábitos nocivos, de uma técnica de escovação inadequada, seja pelos movimentos executados ou pelo tipo de escova, uso de um dentífrico mais abrasivo ou a intercorrência de vários destes fatores <sup>15, 16, 19, 40</sup>. As lesões causadas por abrasão geralmente têm um aspecto de “V”, podem ser localizadas ou generalizadas, e geralmente apresentam ausência de placa bacteriana <sup>7, 15, 19, 40</sup>.

A abfração é resultante de movimentos oclusais desbalanceados, que causam uma flexão do dente, rompendo os cristais na região cervical e resultando em lesões em forma de cunha (Fig. 2) <sup>22, 15, 40</sup>. Muitos estudos apontam a abfração como um fator primário para o surgimento de lesões cervicais não cariosas, sendo que as lesões de abrasão e erosão surgiriam como conseqüência, enquanto outros autores enfatizam que todas as condições possuem uma etiologia multifatorial <sup>7, 15, 16, 20, 24, 40 - 42</sup>. Os trabalhos de Litonjua *et al* <sup>20</sup> e de Bartlett *et Shah* <sup>43</sup> sugerem a necessidade de mais estudos clínicos para se estabelecer a abfração como uma entidade individual, e a perda de tecido dentário seria o resultado da ação combinada da atrição, abrasão e da erosão.

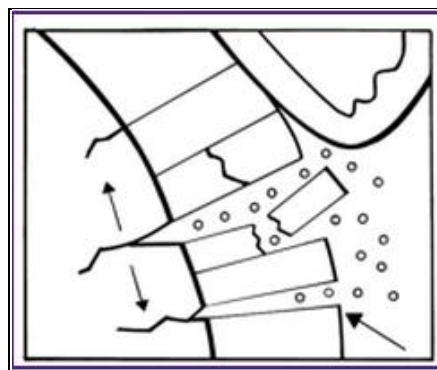


Figura 2: Flexão na junção amelo-cementária: Forças de tensão (setas opostas) derivadas de interferência oclusal (seta única), causando fratura entre os cristais de HAP do esmalte e da dentina. (WC Lee and WS Eakle. J of Prosthet Dent. Possible Role of Tensile Stress in the Etiology of Cervical Erosive Lesions of Teeth. 1984. 52:374-80)

As lesões de erosão são causadas pela ação de ácidos de origem não bacteriana, que provocam uma perda de tecido dentário, com dissolução mineral na camada subsequente <sup>44</sup>, levando a uma perda irreversível de tecido duro dental e amolecimento progressivo da superfície, tornando as superfícies atingidas mais susceptíveis à ação de objetos abrasivos. As lesões são amplas, lisas, em forma de pires, sem a formação de ângulos vivos (Fig. 3 e 4) <sup>7, 16, 17, 19, 40, 41, 43, 45 - 47</sup>.



Figura 3: Lesões típicas de erosão em ponta de cúspide de molar inferior, em paciente jovem, vegetariano. Nota-se a coloração mais amarelada da dentina evidenciada pela transparência da camada de esmalte reduzida pela erosão. (Foto: caso clínico atendido em consultório próprio - 2011)



Figura 4: Erosão na face vestibular dos incisivos superiores, com uma margem de esmalte intacto junto à gengiva (GANSS 2006)<sup>38</sup>

### 3.1.1 Prevalência

A perda de tecido duro dentário ao longo da vida é um processo fisiológico natural, comum em pacientes de todas as faixas etárias, que aumenta suavemente com a idade<sup>10-13,48,49</sup>. Considera-se patológica quando afeta a função, a estética e provoca dor, e sua progressão não depende do aumento da idade<sup>11,48,49</sup>.

MILLER (1907)<sup>50</sup> observou diferentes pacientes, concluindo que a perda excessiva de tecido duro dentário acontece mais em pessoas idosas, e em seus experimentos de escovação com pós dentais abrasivos, os mesmos foram identificados como o maior agente responsável.

MOLENA *et al* (2008)<sup>13</sup>, em um estudo envolvendo 100 idosos com mais de 60 anos, buscaram avaliar a prevalência de LCNC e sua correlação com hábitos de higiene, hábitos parafuncionais e dieta ácida. Observaram que 77 % dos idosos apresentavam ao menos uma lesão cervical não cariiosa, mas sem uma forte correlação com fatores etiológicos<sup>13</sup>.

MURAKAMI<sup>51</sup> avaliou em 2009 a prevalência, distribuição e grau de acometimento de lesões de erosão em 967 crianças entre 36 a 59 meses de idade em Diadema- SP, durante uma campanha de vacinação realizada em Unidades Básicas de Saúde. Ao exame clínico realizado por cirurgiões dentistas calibrados, somaram-se os resultados de questionários abordando a presença de fatores associados. A prevalência de lesões de erosão foi de 51,6%, a maioria em esmalte, e os dentes mais acometidos foram os incisivos superiores. Os questionários revelaram uma associação significativa entre o consumo de refrigerantes, sucos e presença de refluxo gastro-esofágico, e o aumento da idade.

KARIM *et al* (2008)<sup>8</sup> realizaram um estudo envolvendo 55 adolescentes na faixa de 16 anos de idade, que responderam a questionários abrangendo sua situação sócio-econômica e hábitos alimentares previamente a um exame oral. O índice "TWI" (*Tooth Wear Index*) elaborado por Smith and Knight em 1984 foi utilizado para a classificação da perda de tecido na região cervical. Dos estudantes, 18,2 % apresentaram perda patológica de tecido dentário.

JAPUKOVIC *et al* (2010)<sup>10</sup> avaliaram adultos entre 20-64 anos, divididos entre três faixas etárias (20-34, 35-49 e 50-64 anos), com um mínimo de 20 dentes naturais, que não fossem base de trabalhos protéticos, sem doenças periodontais e cáries extensas. O percentual de LCNC em todas as faixas etárias foi elevado, e as lesões foram classificadas de acordo com o TWI. O total de dentes avaliados foi de 5.315. Após análise dos dados, concluíram que o número e a expressão de lesões aumenta com a idade. Os dentes mais acometidos foram os pré-molares, seguidos de primeiro molares, caninos, segundo molares e incisivos. Lesões nas faces vestibulares foram comuns, enquanto nas regiões lingual e palatina foram raras.

TELLES (2000)<sup>52</sup> além de verificar a incidência de LCNC em 29 dos 40 estudantes de odontologia examinados, observou uma relação com a idade e com a presença de facetas de desgaste no estudo de modelos de gesso, sendo a mandíbula mais afetada do que a maxila.

Em um levantamento bibliográfico, FERREIRA *et al* (2009)<sup>53</sup> revisaram alguns dos estudos de prevalência realizados, evidenciando a falta de padronização a nível nacional e internacional em relação às pesquisas realizadas, o que dificulta a implementação de programas de prevenção, tratamento e controle da doença assim como a adoção de políticas governamentais (Tab. 1).

Tabela 1: Levantamento bibliográfico realizado por Ferreira *et al* (2009)<sup>53</sup>, evidenciando a falta de padronização em estudos realizados, tanto em relação aos índices utilizados, quanto à qualidade e quantidade das populações abrangidas

<b>Autores</b>	<b>Ano*</b>	<b>Local</b>	<b>Amostra</b>	<b>Idade</b>	<b>Índice</b>	<b>Prevalência</b>
<b>Milosevic</b>	1994	Inglaterra	1.035	14 anos	TWI	30 %
<b>Bartlett <i>et al</i></b>	1998	Inglaterra	210	11-14 anos	TWI	57 %
<b>WILLIAMS <i>et al</i></b>	1999	Inglaterra	525	14 anos	O'Brien	16,9% (Vest) 12,0% (Palat)
<b>Deery <i>et al</i></b>	2000	EUA*e Reino Unido**	129* 125**	11-13 anos	TWI	*41% **37%
<b>Al Dlaigan</b>	2001	Reino Unido	418	14 anos	TWI	100%
<b>Van Rijkom</b>	2002	Países Baixos	345 400	10-13 anos 15-16 anos	LUSSI	3% 30%
<b>Al-Majed <i>et al</i></b>	2002	Arábia Saudita	354 862	5-6 anos 12-14 anos	TWI	34% 26%
<b>Amadottir</b>	2003	Islândia	278	15 anos	1-Esmalte até 3-dentina	72% grau 1 5% grau 3
<b>Peres <i>et al</i></b>	2005	Brasil	499	12 anos	O'Sullivan	13 %
<b>Truln <i>et al</i></b>	2005	Holanda	832	12 anos	LUSSI	24%
<b>Çaglar <i>et al</i></b>	2005	Turquia	153	11 anos	O'Sullivan	28%
<b>Dugmore, Rock</b>	2005	Inglaterra	1753* 1308**	12 anos 14 anos	TWI modificado	56,3% * 64,1% **
<b>Auad <i>et al</i></b>	2007	Brasil	458	13-14 anos	O'Brien	34,1%
<b>Kazoullis <i>et al</i></b>	2007	Austrália	714	5,5 anos * 14,6 anos**	Aine <i>et al</i> (59)	78%* 25% **
<b>Sales-Peres <i>et al</i></b>	2008	Brasil	295	12 anos	TWI modificado	26,9%

### 3.1.2 Índices de Classificação

Os estudos epidemiológicos das LCNC são realizados em faixas etárias variadas, e diferentes superfícies dentárias são incluídas e avaliadas por diferentes parâmetros. Há uma necessidade mundial, clínica e científica, na padronização da forma com que as lesões são descritas e mensuradas, o que facilitaria a implementação de programas de prevenção, tratamento e controle das doenças. Vários autores em seus estudos verificaram a necessidade do desenvolvimento de uma padronização da metodologia para o estudo das LCNC<sup>53, 54</sup>.

Bardsley (2008)<sup>54</sup> realizou uma revisão de literatura sobre os diferentes índices adotados mundialmente em estudos clínicos e epidemiológicos. Muitos índices

foram desenvolvidos, e a comparação entre os resultados é dificultada pelas diferenças entre eles. As medições quantitativas abrangem a profundidade das lesões e as áreas atingidas, enquanto as análises qualitativas derivam de descrições clínicas, variando em função da sensibilidade do examinador. Concluiu que um índice ideal deve ser de fácil entendimento e aplicação, de fácil reprodutibilidade e útil para pesquisas em prevenção, etiologia e monitoramento de uma condição patológica, sendo uma ferramenta tanto epidemiológica quanto clínica.

Um dos primeiros índices foi desenvolvido por Eccles (1979)<sup>47, 54</sup> e dividia as lesões em três classes avaliando quatro das superfícies dentárias (Tab. 2). A localização e a severidade das lesões geralmente indicam a sua etiologia, reforçando a importância do papel do cirurgião dentista no diagnóstico das patologias .

Tabela 2: Índice de Eccles para erosão dental de origem não-industrial (1979)

CLASSE	FACES	CRITÉRIOS
<b>Classe I</b>		Estágio Inicial da erosão, ausência de sulcos de desenvolvimento, superfície lisa e glazeada, principalmente em superfícies vestibulares ou incisivos superiores e caninos
<b>Classe II</b>	Vestibular	Envolvimento dentinário de menos de um terço da superfície Tipo 1: lesão côncava, ovóide, na região cervical, que deve ser diferenciada de lesões com bordas afiadas Tipo 2: lesão irregular inteiramente na coroa, com áreas onde o esmalte parece ter sido arrancado da superfície
<b>Classe IIIa</b>	Vestibular	Destrução mais extensa da dentina, especialmente em dentes anteriores. A maioria das lesões atinge uma grande área da superfície, mas algumas são depressões localizadas
<b>Classe IIIb</b>	Lingual ou Palatina	Lesões com extensão maior do que um terço da superfície; as bordas incisais apresentam maior translucidez devido à perda de dentina; aparência lisa da dentina, em alguns casos aplainada ou com depressões; margens gengivais e proximais apresentam uma aparência esbranquiçada
<b>Class IIIc</b>	Incisal ou Oclusal	Bordas incisais e superfícies oclusais com envolvimento dentinário, aplainadas ou escavadas; restaurações salientes; bordas incisais translúcidas devido ao esmalte desgastado
<b>Classe IIId</b>	Todas	Dente severamente afetado, com envolvimento extenso das superfícies vestibular e lingual.

Baseados neste índice, Smith and Knight (1984) elaboraram o TWI – *Tooth Wear Index*, onde as superfícies visíveis de todos os dentes presentes na arcada eram incluídas na avaliação<sup>47, 54</sup> (Tab. 3).

Tabela 3: Tooth Wear Index (TWI) - Smith and Knight (1984)

CLASSIFICAÇÃO	SUPERFÍCIE	CRITÉRIO
<b>0</b>	B / L / O / I C	Sem perda das características da superfície de esmalte Sem perda de contorno
<b>1</b>	B / L / O / I C	Sem perda das características da superfície de esmalte Mínima perda de contorno
<b>2</b>	B / L / O I C	Perda de esmalte com exposição de dentina em menos de 1/3 da superfície Perda de esmalte expondo dentina Defeito menor do que 1 mm de profundidade
<b>3</b>	B / L / O I C	Perda de esmalte expondo dentina em mais de 1/3 da superfície Perda de esmalte e substancial perda de dentina Defeito entre 1-2 mm de profundidade
<b>4</b>	B / L / O I C	Perda total de esmalte, ou exposição pulpar, ou de dentina secundária Exposição pulpar ou de dentina secundária Defeito maior do que 2 mm de profundidade, ou exposição pulpar ou de dentina secundária



Frequentemente o índice utilizado para avaliação de lesões de erosão desenvolvido por Lussi<sup>38,55</sup> (Tab. 4), assim como os utilizados pelas instituições Children's National Health e National Diet and Nutrition Surveys (UK)<sup>38</sup> (Tab. 5) são aplicados em estudos de grupos de pesquisa.

Tabela 4: Índice de Classificação de Erosão de acordo com Lussi (1996). Faces vestibulares, linguais e oclusais de todos os dentes, com exceção dos terceiros molares

SCORE	SUPERFÍCIE	CRITÉRIO
<b>Vestibular</b>		
<b>0</b>		Sem erosão. Aparência lisa, sedosa, possível ausência de sulcos de desenvolvimento
<b>1</b>		Perda de esmalte na superfície, podendo estar presente cervicalmente à lesão. Concavidades no esmalte, mais largas que profundas, ao contrário do que acontece na abrasão por escovação. As lesões podem ter aparência ondulada. Sem envolvimento dentinário.
<b>2</b>		Envolvimento da dentina em menos da metade da superfície dental
<b>3</b>		Envolvimento da dentina em mais da metade da superfície dental
<b>Oclusal / Lingual</b>		
<b>0</b>		Sem erosão. Superfície com uma aparência lisa, glazeada; possível ausência de sulcos de desenvolvimento
<b>1</b>		Leve erosão, com perda de esmalte da superfície. Cúspides arredondadas, restaurações salientes e acima do nível do dente, sulcos oclusais. Sem envolvimento dentinário.
<b>2</b>		Erosão severa, com sinais mais pronunciados do que no grau 1. Envolvimento dentinário.

Tabela 5: Índices desenvolvidos pelo UK National Survey of Children's Dental Health (somente superfícies vestibulares e linguais dos dentes anteriores superiores decíduos e permanentes) e pelo UK National Diet and Nutrition Surveys (inclui superfícies oclusais dos dentes molares)

DEPTH	
<b>0</b>	Normal
<b>1</b>	<p>Somente esmalte. Perda das características da superfície. Em dentes incisivos, há perda dos sulcos de desenvolvimento. Aparência lisa, glazeada, ou de “vidro fosco”.</p> <p>Nas superfícies oclusais, as cúspides tornam-se arredondadas, podendo haver depressões (“cuppings”).</p>
<b>2</b>	<p>Esmalte e dentina – perda do esmalte expondo dentina. Nos incisivos pode assemelhar-se a um “preparo em ombro”, paralelo à margem gengival, particularmente nas faces palatinas.</p> <p>Os incisivos podem parecer menores pelo desgaste das bordas incisais.</p> <p>Nas superfícies oclusais, presença de arredondamento das cúspides e depressões (“cuppings”).</p> <p>Restaurações podem estar salientes, acima do nível do dente adjacente.</p>
<b>3</b>	Esmalte, dentina e polpa – perda de esmalte e dentina, resultando em exposição pulpar
<b>9</b>	Avaliação não é possível
AREA	
<b>0</b>	Normal
<b>1</b>	Menos de 1/3 de envolvimento da superfície
<b>2</b>	De 1/3 a 2/3 de envolvimento da superfície
<b>3</b>	Mais de 1/3 de envolvimento da superfície
<b>9</b>	Avaliação não é possível

Muitas variações destes índices são utilizadas atualmente, o que dificulta tanto as pesquisas acadêmicas quanto a aplicabilidade clínica dos mesmos <sup>56 - 59</sup>. BARTLETT, GANSS e LUSSI (2008) reuniram-se para desenvolver um novo índice que atendesse tanto às necessidades clínicas quanto científicas, o BEWE- *Basic Wear Index Examination* <sup>60</sup>. A maior área de perda é registrada na Tab. 6 a, de acordo com os critérios listados na Tab. 6. Os valores somados relacionados aos escores BEWE determinam os riscos e quais são as recomendações a serem seguidas, listadas na Tab.7.

Tabela 6: BEWE: Valor de graduação da superfície dentária com maior envolvimento

Tabela 1 BEWE: Critérios para graduar perda erosiva	
GRAU	
0	Sem perda de tecido dental por erosão
1	Perda inicial de textura da superfície
2*	Defeitos distintos, perda de tecido duro < 50% da área da superfície
3*	perda de tecido duro ≥ 50% da área da superfície
* Nos graus 2 e 3, a dentina está sempre envolvida	

Tabela 6a : Registro da Soma dos valores atribuídos de acordo com a Tabela 1 do BEWE

Graduação BEWE						
Maior grau	Maior Grau	Maior Grau	Maior Grau	Maior Grau	Maior Grau	SOMA VALORES
1 Sextante	2 Sextante	3 Sextante	4 Sextante	5 Sextante	6 Sextante	
(17-14)	(13-23)	(24-27)	(37-34)	(33-43)	(44-47)	

Tabela 7: Tabela 2 do BEWE - Classificação de Risco Clínico, após a soma dos valores de todos os sextantes da cavidade oral

<b>TABELA 2: NÍVEL DE RISCO COMO GUIA PARA MANEJO CLÍNICO</b>		
<b>Nível de Risco</b>	<b>Grau cumulativo dos 6 sextantes</b>	<b>Procedimento Clínico</b>
<b>NENHUM</b>	Menor ou igual a 2 <sup>a</sup>	Acompanhamento de rotina Repetir a intervalos de 3 anos
<b>BAIXO</b>	Entre 3 e 8 <sup>a</sup>	Avaliação e instruções de higiene oral e dieta, manutenção de rotina e observação Repetira a intervalos de 3 anos
<b>MÉDIO</b>	Entre 9 e 13 <sup>a</sup>	Avaliação e instruções de higiene oral e dieta, identificação dos principais fatores etiológicos responsáveis pela perda de tecido e desenvolvimento de estratégias para eliminar seus impactos. Considerar fluoretação e outras estratégias para aumentar a resistência das superfícies dentais. Idealmente, evitar restaurações e monitorar a perda por erosão através de radiografias, modelos de estudo e impressões de silicone. Repetir a intervalos de 6-12 meses.
<b>ALTA</b>	14 ou acima*	Avaliação e instruções de higiene oral e dieta, identificação dos principais fatores etiológicos responsáveis pela perda de tecido e desenvolvimento de estratégias para eliminar seus impactos. Considerar fluoretação e outras estratégias para aumentar a resistência das superfícies dentais. Idealmente, evitar restaurações e monitorar a perda por erosão através de radiografias, modelos de estudo e impressões de silicone. Especialmente em casos de erosão severa, procedimentos podem envolver a realização de restaurações. Repetir a intervalos de 6-12 meses.

*\* Os valores limites são baseados na experiência e estudos de um dos autores (A.L.) e precisam ser considerados.*

### 3.2 Erosão Dental

Entre as LCNC, a erosão merece destaque em um tópico separadamente pela alta prevalência e importância<sup>37, 61</sup>.

A erosão possui uma etiologia multifatorial<sup>34, 44</sup> (Fig. 5). As lesões podem surgir na presença de um ou mais fatores etiológicos, ou em conjunto com outras patologias. A distribuição das lesões na cavidade oral geralmente indica qual o fator etiológico associado<sup>19, 38, 49</sup>.

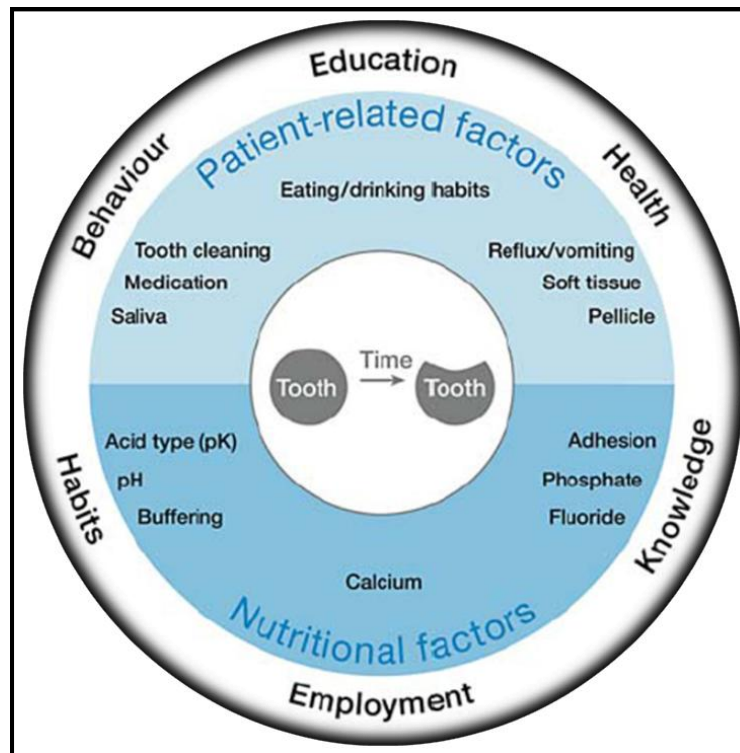


Figura 5: Diagrama proposto por LUSI (2006) correlacionando os fatores comportamentais, químicos e biológicos envolvidos no desgaste dental, ao longo do tempo.

Enquanto a atrição e abrasão foram largamente observadas em populações de humanos há 2 milhões de anos, a erosão parece ser uma doença moderna<sup>62</sup>.

O ritmo da vida moderna influenciou os hábitos alimentares da população, e cada vez mais os alimentos frescos são substituídos por alimentos industrializados contendo substâncias químicas como acidulantes e conservantes em sua composição.

Clinicamente observa-se uma relação entre o aumento de erosão dental e a ingestão de alimentos e bebidas considerados ácidos<sup>21, 22, 45 - 47</sup>.

Surge também o apelo para a prática de atividades físicas e de lazer, e para compensar o sedentarismo na maior parte do tempo, e embaladas pela força da mídia, as pessoas optam por ingerir substâncias energéticas e bebidas esportivas (repositores hidroeletrólíticos) no lugar de água. O pH das bebidas esportivas comercialmente disponíveis são em geral mais baixos do que o pH da água, e a forma de ingestão, o grau de desidratação e a diminuição do fluxo salivar potencializam o risco de erosão dentária<sup>23, 25, 62 - 66</sup>. O consumo destas substâncias potencializa o risco de desenvolvimento de erosão em conjunto com outros fatores<sup>34</sup>, e adição de cálcio e fósforo a essas bebidas pode diminuir seu potencial erosivo<sup>25</sup>.

Hábitos parafuncionais como o bruxismo manifestam-se em resposta ao estresse, contribuindo para o aumento da perda de tecido dentário<sup>7, 67 - 69</sup>, e a presença de facetas de desgaste oclusal devem ser levadas em consideração no tratamento de lesões cervicais não cariosas<sup>70</sup>. A presença de lesões em um dente isolado (Fig.6) reforça a idéia de que algumas lesões não podem ser explicadas por abrasão ou erosão e o componente oclusal poderia ter forte influência<sup>43</sup>, embora muitos autores não considerem a abfração como fator etiológico primário de LCNC<sup>20, 42, 43</sup>.



Figura 6: Lesão isolada na cervical do elemento 14. (Foto: caso clínico atendido em consultório próprio - 2011)

Doenças do trato gastrointestinal, como úlceras e refluxo gastroesofágico, promovem um aumento da acidez bucal pela presença do ácido hidroclorídrico de origem estomacal na cavidade oral em decorrência destas doenças<sup>71 - 74</sup>. O uso constante de

broncodilatadores, que relaxam a musculatura lisa, pode afetar o esfíncter esofágico, favorecendo o RGO <sup>75</sup>. Transtornos alimentares, como anorexia nervosa e bulimia também contribuem para a presença do ácido na cavidade oral. A erosão dental, entre outras alterações, possibilita um diagnóstico precoce da situação. As superfícies palatinas dos incisivos superiores são as mais afetadas. Nestes casos, a atenção do cirurgião dentista durante o exame clínico é fundamental, permitindo o encaminhamento do paciente a outros profissionais da área de saúde, em uma abordagem terapêutica multidisciplinar <sup>71, 76 - 80</sup>.

O uso de drogas ilícitas como o ecstasy, que provocam desidratação e secura na boca, geralmente é associado ao consumo de bebidas com baixo pH, levando ao aumento de seu potencial erosivo. O abuso de álcool, que leva a episódios freqüentes de vômito e distúrbios gastrointestinais, produz lesões erosivas semelhantes às provocadas por RGO e transtornos alimentares <sup>23</sup>.

A ingestão freqüente de medicamentos pode aumentar o risco do surgimento de lesões de erosão, diretamente pelo seu potencial ácido, como no caso da vitamina C e ácido acetilsalicílico, ou pela diminuição do fluxo salivar, quando o paciente faz uso crônico de drogas psicotrópicas, anticolinérgicas, anti-histamínicas, para o tratamento do Mal de Parkinson e antieméticos <sup>24, 75</sup>. Alguns produtos para higiene oral apresentam um pH baixo para manter a estabilidade de compostos fluoretados e favorecer a incorporação de íons flúor na rede de HAP, permitindo a formação de FAP, e ainda com a intenção de favorecer a precipitação de  $\text{CaF}_2$  na superfície dentária, que age como um reservatório de íons flúor <sup>75</sup>.

Além da quantidade de saliva presente na cavidade oral, a capacidade tampão, o pH e níveis de cálcio, fósforo e proteínas na saliva afetam o risco do surgimento de lesões de erosão. A quantidade de saliva e sua capacidade tampão são os fatores biológicos mais importantes no desenvolvimento da erosão <sup>22, 24, 34, 81, 82</sup>.

Exposições ocupacionais, sofridas por nadadores profissionais pela ingestão de cloro, provadores de vinho e trabalhadores em fábricas também são relacionadas ao surgimento de lesões de erosão, muitas vezes em grau severo. A presença de névoas ácidas, principalmente de ácido sulfúrico e ácido hidrocloreídrico podem provocar o

surgimento de lesões de erosão, principalmente em trabalhadores de indústrias de baterias expostos. As superfícies vestibulares dos incisivos superiores são as mais afetadas por serem mais frequentemente expostas. Trabalhadores com pior higiene apresentam menor incidência ou severidade das lesões, sugerindo que a presença de placa bacteriana possa agir como uma barreira à ação do ácido<sup>24, 82 - 85</sup>.

A classificação das lesões é feita principalmente levando-se em consideração a quantidade de superfícies dentárias atingidas e a área destas lesões, e vários índices foram elaborados para a classificação de lesões de erosão. As diferentes formas de registro das lesões (localização, quantidade de elementos dentários incluídos, consideração de profundidade) e do tipo de análise (qualitativa e /ou quantitativamente) dificultam o conhecimento total da prevalência da doença erosão, e por este motivo busca-se um índice padronizado<sup>10, 38, 54, 56-61</sup>. A incidência da erosão vem aumentando na população mundial, independente do tipo de exame clínico e índice utilizado e da idade da população examinada<sup>61</sup>.

A etiologia multifatorial das lesões de erosão implica em uma grande variedade de tratamentos possíveis<sup>86</sup>. Muitas vezes a restauração destas lesões pode ser necessária para prevenir a sua ampliação e restabelecer a estética, sendo indispensável a identificação e a remoção dos fatores causais<sup>7, 17, 21, 35, 36</sup>. Nem sempre as lesões cervicais são acompanhadas de sintomatologia dolorosa, o que precisa ser levado em consideração na escolha da abordagem do problema, assim como se houver a presença da sintomatologia dolorosa mesmo na ausência de cavitações<sup>86</sup>.

Principalmente na presença de lesões erosivas, alguns cuidados têm sido recomendados por diversos autores para evitar a progressão da doença<sup>21, 22, 24, 35, 36, 87</sup>:

- utilização de bochechos com flúor
- realizar após a ingestão de substâncias ácidas bochechos com bicarbonato de sódio ou ingerir outras substâncias neutralizadoras ou remineralizadoras, como queijos e iogurtes;



- diminuir a frequência e a forma de ingestão de bebidas ácidas, sem agitá-las na boca ou com uso de canudo para diminuir o contato com as superfícies dentárias. Evitar a ingestão principalmente à noite, quando o fluxo salivar diminui;

- aguardar uma hora antes de escovar os dentes após a ingestão de bebidas/alimentos ácidos, para não remover a película adquirida que provém proteção contra a erosão, e usar escovas macias e dentifrícios não abrasivos com alta concentração de flúor;

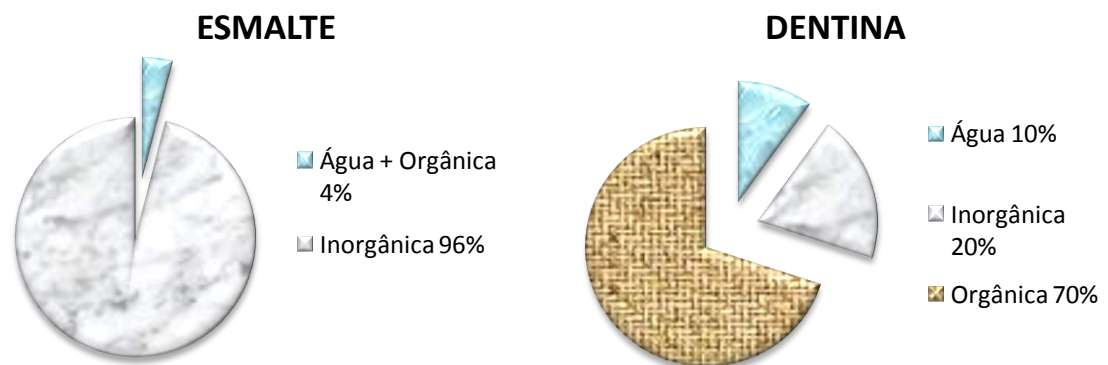
- recomendar atenção de outras especialidades médicas, no caso da presença de refluxos gastroesofágicos e transtornos alimentares como bulimia e anorexia;

- o uso de chicletes sem açúcar para estimular o fluxo salivar;

- o consumo de bebidas modificadas em lugar das tradicionais.

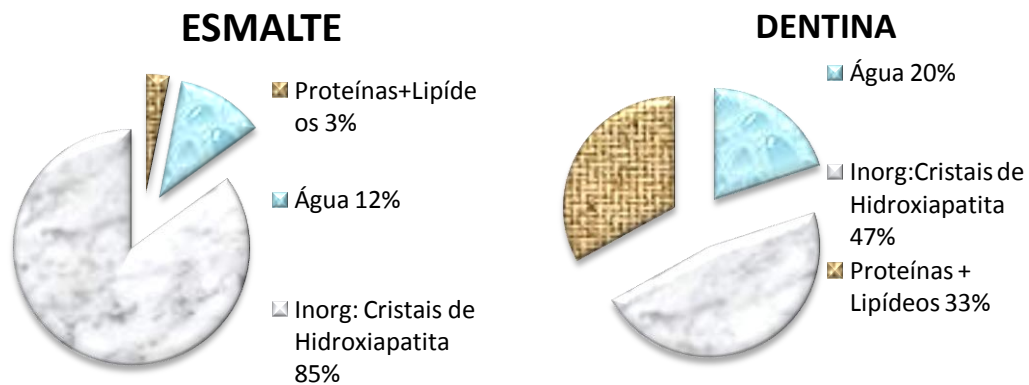
### 3.3 Efeito dos ácidos sobre os tecidos dentais

Os tecidos dentais afetados pela erosão são o esmalte e a dentina, diferentes em estrutura, mas similares em seus componentes. São constituídos por minerais, proteínas, lipídeos e água, distribuídos em peso de acordo com os Gráf. 1 e 2<sup>23</sup>.



Gráficos 1 e 2: Distribuição em peso dos constituintes do esmalte e dentina

A distribuição em volume, no entanto, é mais importante (Gráf. 3 e 4). As concentrações de água e componentes orgânicos da matriz orgânica são responsáveis pela difusão de moléculas através da rede cristalina. O efeito dos ácidos sobre a superfície dos cristais minerais acontece apenas após se difundirem pela placa bacteriana (se houver), película adquirida, e pela matriz protéica e lipídica existente entre eles<sup>22, 88, 89</sup>.



Gráficos 3 e 4: Distribuição em volume dos constituintes do esmalte e dentina

A matriz mineral dos tecidos dentais e ossos é composta por HAP, disposta em uma rede cristalina hexagonal. A diferença entre os parâmetros da rede cristalina do esmalte e da dentina é pequena, na ordem de 0,002 nm. Os cristais de HAP do esmalte são maiores do que os da dentina e a HAP:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  encontrada nos dentes e ossos é deficiente em cálcio. Alguns íons cálcio podem ser substituídos por íons  $\text{F}^-$ , e geralmente uma parte do fosfato ( $\text{PO}_4$ ) é substituída por carbonato ( $\text{CO}_3$ ). Portanto, é uma HAP cálcio-deficiente carbonatada:  $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_{6-y}(\text{CO}_3)_z(\text{OH})_{2-u}\text{F}_u$ . Estas alterações deixam a porção mineral do esmalte e dentina mais susceptíveis à ação de ácidos, enquanto a FAP:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$  é menos solúvel do que a HAP:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ <sup>88,90</sup>.

A erosão química dentária ocorre quando íons hidrogênio  $\text{H}^+$  derivados de ácidos fracos se dissociam em água, atacando diretamente a superfície cristalina, ou ânions que podem se ligar ao cálcio removendo-o<sup>88</sup>.

No esmalte, a erosão acontece linearmente em função do tempo. Na dentina, ocorre inicialmente na interface entre a dentina peritubular e intertubular. Com o aumento da exposição ao ácido, acontece um esvaziamento e estreitamento dos túbulos (Fig. 7), até que a dentina peritubular seja completamente dissolvida, resultando na exposição de uma camada de matriz orgânica completamente desmineralizada (Fig. 8), com uma camada subjacente alterada, e a taxa de desmineralização da dentina diminui em função do tempo, à medida que o montante de colágeno degradado aumenta, por formar uma barreira contra a difusão de íons através da região desmineralizada<sup>24, 89, 90</sup>.

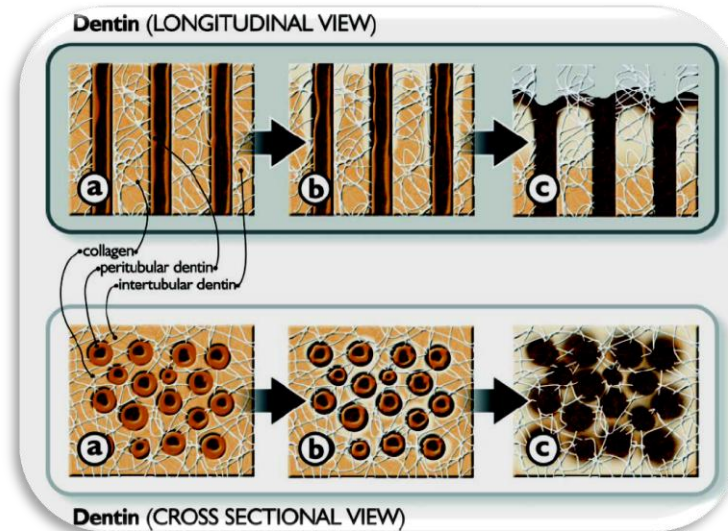


Figura 7: Progressão da desmineralização da dentina – visão longitudinal e transversal: a) dentina sadia; b) desmineralização inicial; c) exposição da matriz orgânica (MAGALHÃES *et al* 2009)<sup>24</sup>

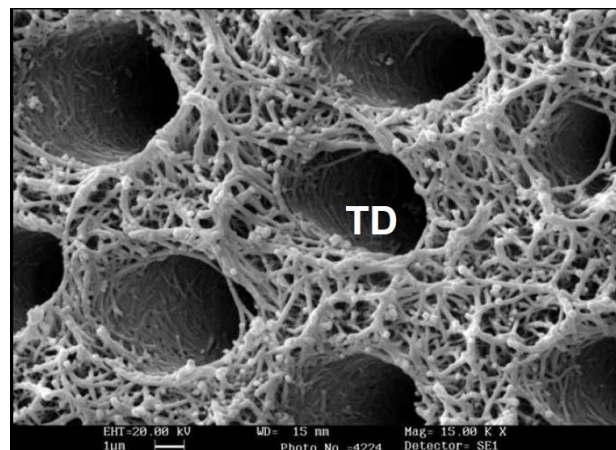


Figura 8: Fotomicrografia eletrônica de varredura ilustrando a superfície dentinária após a aplicação do ácido fosfórico a 37% por 15 segundos, evidenciando a rede de fibrilas colágenas. (TD) túbulo dentinário. (REIS *et al* 2007)<sup>91</sup>

### 3.4 Flúor

O flúor é o 13º elemento mais abundante na natureza, e o mais eletronegativo dos halogênios, possuindo grande capacidade de se ligar a outros elementos químicos formando compostos orgânicos e inorgânicos<sup>3</sup>. O seu papel preventivo o transformou no principal agente no combate à doença cárie<sup>1-6</sup>.

A estabilidade química da porção mineral do dente é essencial para a integridade da estrutura dental contra ataque de cáries ou outra agressão química no meio oral, e durante muito tempo a ênfase foi colocada sobre a estabilidade do flúor na rede cristalina<sup>88, 92</sup>. Estudos mostram que o uso de fluoretos promove a precipitação de íons  $\text{CaF}_2$  sobre as estruturas dentais, que são facilmente removidos por ser um composto instável durante a ingestão da maioria de bebidas ácidas<sup>25, 93, 94</sup>, precisando ser mantidos em pequenas quantidades na cavidade oral ao longo da vida<sup>3, 6</sup>.

Atualmente é entendido que a eficácia do flúor como agente cariostático não é baseada em um único mecanismo e sim em processos diferentes (redução da solubilidade mineral através da formação de depósitos de cristais do tipo  $\text{CaF}_2$ , inibição da dissolução de mineral, inibição da formação de ácido por bactérias da placa inibindo seu metabolismo, promoção de remineralização com formação de fluorapatita), dependendo do agente e do modo de uso<sup>95</sup>.

Rios *et al* (2008)<sup>96</sup>, em um estudo *in situ* atestaram que não houve diferença na ação sobre dentina erodida ou erodida e abrasionada entre um dentífrico na concentração de 1 ppm e outro a 5 ppm, não sendo então indicado o uso de concentrações maiores.

Cunha (2008)<sup>97</sup> em uma abordagem diferente, realizou por espectrometria de emissão atômica a medição da quantidade de fósforo e cálcio presentes nas soluções de ácido cítrico a 1% e a 10% usadas para promover erosão ácida em dentes decíduos após serem tratadas com NaF a 2% (24 h) e Diamino Fluoreto de Prata a 10% (24 h). Em relação ao cálcio, nenhum dos tratamentos mostrou diferença em relação aos grupos controle positivo (submetido aos desafios ácidos) e controle negativo (não submetido aos desafios ácidos). O Diamino Fluoreto de Prata foi o grupo que sofreu menor perda de fósforo, semelhante ao grupo controle negativo, e o NaF só foi eficaz quando o desafio ácido foi feito em uma concentração mais baixa.

Ainda não há consenso na literatura sobre a concentração ótima de flúor para a efetiva remineralização dos tecidos dentais, mas aplicações freqüentes podem aumentar a resistência à abrasão em lesões erosivas<sup>22, 94</sup>. Estudos da precipitação de

fosfato de cálcio provaram que os íons de flúor possuem propriedades físico-químicas únicas capazes de acelerar a formação de cristais apatita<sup>5</sup>.

A dentina é muito mais sensível a variações de pH do que o esmalte pela sua composição, e por naturalmente não ficar em contato com a saliva. Para o desenvolvimento de lesões de cárie, o pH crítico para o esmalte é inferior a 5,5, enquanto na dentina é de 6,5. A presença de flúor constante na saliva, através da fluoretação da água de abastecimento, dentifrícios, soluções para bochechos, muda suas propriedades físico-químicas com relação ao pH crítico de dissolução do dente, como ilustrado na Tab. 8. O pH crítico para o desenvolvimento de lesões de erosão é mais baixo do que o crítico para o desenvolvimento de lesões cariosas, entre 4,5 e 5,5<sup>6</sup>.

Tabela 8: Efeitos do pH do meio, presença ou ausência de flúor, efeitos físico-químicos e conseqüências para a estrutura dental. (Cury 2001)<sup>6</sup>

pH	Flúor no meio	Efeito Físico-químico				Conseqüências:	
		Dissolução de minerais + solúveis *	Dissolução de HA e AF	Formação de FA	Dissolução de FA	Esmalte	Dentina
7,0	Não	Não	Não	Não	Não	Re	Re
7,0	Sim	Não	Não	Sim	Não	Re+	Re+
<6,5>5,5	Não	Sim	Não	Não	Não	Re	Des
<6,5>5,5	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Re+	Des -
<5,5>4,5	Não	Sim	Sim	Não	Não	Des	Des+
<5,5>4,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Des	Des
<4,5	Indiferente	Sim	Sim	Não	Sim	<b>Cárie Aguda / Erosão</b>	

\*Apatita carbonatada e fosfato de cálcio amorfo; Re = Remineralização; Re+ = Remineralização ativada; Des = Desmineralização; Des- = desmineralização reduzida; Des+ = Desmineralização aumentada

GANSS *et al*<sup>98</sup> realizaram um experimento cíclico de desmineralização e remineralização durante 5 dias. Amostras de dentina humana eram desmineralizadas com ácido cítrico e alternadamente estocadas em uma solução remineralizadora. Foram divididas em três grupos (n=25), sendo um controle (somente erosão), um grupo submetido à erosão e tratado com flúor na forma de pasta fluoretada, solução para bochecho e flúor em gel, e o terceiro grupo tratado como o grupo 2, mas o material orgânico era removido com uma enzima colagenase misturada à solução remineralizadora. A análise do conteúdo mineral, monitorado diariamente por microradiografias longitudinais, mostrou que o grupo com presença de colagenase sofreu uma perda mineral maior do que o grupo controle, e no grupo sem adição de colagenase a perda mineral foi significativamente menor, indicando que sem a presença da matriz dentinária o efeito do flúor sobre a erosão dentária não é efetivo.

A incidência de lesões de erosão vem aumentando na população mundial, apesar das políticas públicas de fluoretação para prevenção de cárie e do fato da grande maioria dos dentifrícios conterem flúor em sua composição<sup>25</sup>.

### **3.5 LASER de Nd:YAG**

Diversos comprimentos de onda são usados para provocar alterações de superfície em tecidos dentários com intuito preventivo<sup>27-33</sup>.

Os lasers mais usados são o Er:YAG ( $\lambda = 2940$  nm), ErCr:YSGG ( $\lambda = 2790$  nm), CO<sub>2</sub> ( $\lambda = 9600$  nm e 10600 nm), Argônio ( $\lambda = 488-514$  nm), Ho:YLF ( $\lambda = 2065$  nm), Ho:YAG ( $\lambda = 2100$  nm) e Nd:YAG ( $\lambda = 1064$  nm)<sup>28</sup>. A interação do laser com os tecidos dependerá de outros fatores inerentes ao laser além do comprimento de onda (Fig. 9), como regime de operação, largura temporal, energia de cada pulso, taxa de repetição, diâmetro do feixe e meio de entrega. As características ópticas de cada tecido (índice de refração, coeficiente de espalhamento e de absorção e anisotropia de espalhamento) juntamente com a propagação de calor determinam o efeito produzido e precisam ser consideradas<sup>29,99</sup>.

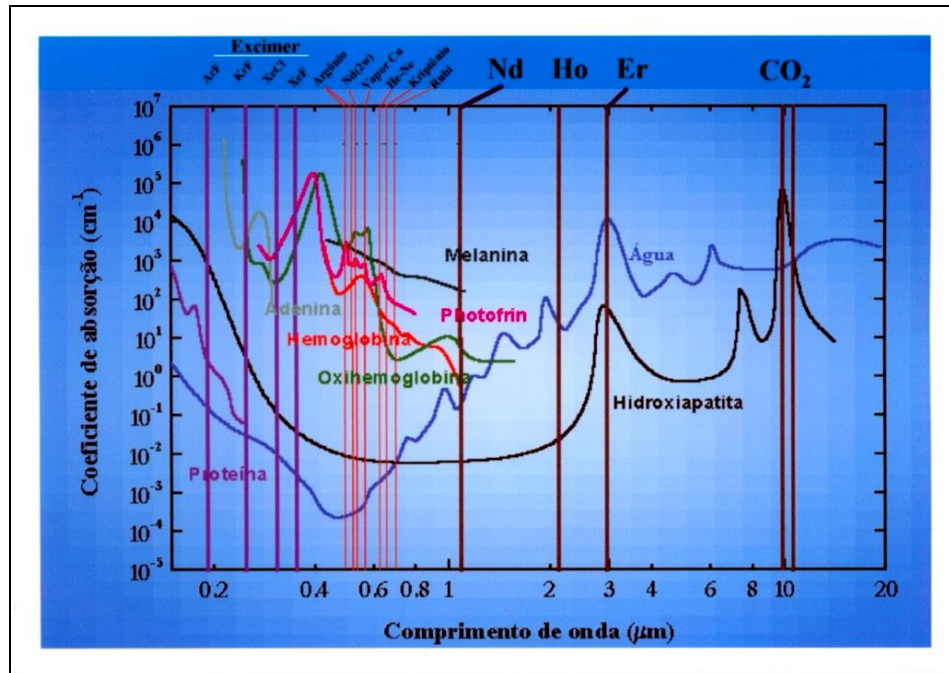


Figura 9: Espectro do Coeficiente de Absorção dos cromóforos presentes nos tecidos biológicos em função do comprimento de onda – (MALDONADO 2002)<sup>100</sup>

O efeito térmico da irradiação laser altera as características cristalográficas da matriz mineral, de forma similar às observadas durante o aquecimento de espécimes em forno, como os parâmetros da rede cristalina e o tamanho dos cristais, eliminando água e impurezas nos sítios dos fosfatos e da hidroxila e fazendo surgir novos compostos cristalinos, aumentando a sua resistência ácida<sup>28 - 30, 33, 101, 102</sup>. As alterações sofridas durante o aquecimento são listadas na Tab. 9.

O efeito nos tecidos vai depender da faixa de temperatura alcançada durante o aquecimento, divididas em três regiões<sup>28, 101</sup>:

- I- 100 – 650 °C : hidroxiapatita estável com alteração no parâmetro de rede
- II- 650 – 1100 °C: crescimento de cristais de hidroxiapatita, expansão do parâmetro da rede e formação de fosfato de tricálcio na fase  $\beta$  (FTC- $\beta$ )
- III- > 1100 °C : FTC- $\beta$  converte-se em FTC-  $\alpha$ , fusão da HAP (1280 °C) e presença de FTcC (acima de 1300 °C)<sup>31</sup>

Tabela 9: Fases Cristalográficas de amostras de dentina e esmalte aquecidos ou irradiados com lasers de alta intensidade (adaptado de BACHMANN *et* ZEZELL 2005)<sup>28</sup>

Tratamentos	Resultados Observados
<b>HIDROXIAPATITA</b>	
Aquecimento (1000 °C)	Crescimento dos cristais de HAP
Aquecimento (1500 °C)	Formação de $(Ca_3PO_4)_2 - \alpha$ e $Ca_4(PO_4)_2O$
Nd:YAG / CO2 – 10,6 $\mu$ m (500-3230 J/cm <sup>2</sup> )	Crescimento dos cristais; $(Ca_3PO_4)_2 - \alpha$
<b>DENTINA</b>	
Q-Switched Nd:YAG ( $\Delta t = 15$ ns; F=40J/cm <sup>2</sup> )	Crescimento de cristais de HAP; Formação de $\beta$ - $(Ca_3PO_4)_2$ e $Ca_4(PO_4)_2O$
Nd:YAG (150mJ / pulso)	$(Ca_3PO_4)_2 - \beta$ e $(Ca_3PO_4)_2 - \alpha$
CO2 – 10,6 $\mu$ m (50 W)	Crescimento dos Cristais de HAP
Nd:YAG (207 J / cm <sup>2</sup> )	Crescimento dos cristais de HAP
<b>ESMALTE</b>	
Aquecimento (100 – 900 °C)	Contração do parâmetro de rede $a$ entre 200- 400 °C, expansão entre 500 – 900 °C
Aquecimento (100 – 1000 °C)	Varição na largura do pico (300) parâmetro de rede e formação de $(Ca_3PO_4)_2 - \beta$
Nd:YAG	Formação de $(Ca_3PO_4)_2 - \alpha$
CO2 – 10,6 $\mu$ m (15- 12000 J/cm <sup>2</sup> )	Formação de $(Ca_3PO_4)_2 - \alpha$
CO2 – 10,6 $\mu$ m (10 W)	Formação de $(Ca_3PO_4)_2 - \alpha$
Argônio (67 J/ cm <sup>2</sup> )	Contração do eixo $a$

O laser de Nd:YAG operando em regime pulsado mostrou-se seguro quanto ao aumento de temperatura intra-pulpar<sup>103</sup>. Atua promovendo uma fusão com subsequente ressolidificação dos tecidos dentários, diminuindo sua permeabilidade e aumentando a sua resistência ácida<sup>28, 29, 33, 99, 103 -105</sup>. Na Fig.8 observa-se uma amostra de dentina bovina antes (Fig. 10 a) e após a irradiação com laser de Nd:YAG (Fig. 10 b), com áreas de fusão de tecido e depressões onde em um plano abaixo encontra-se tecido não fundido.



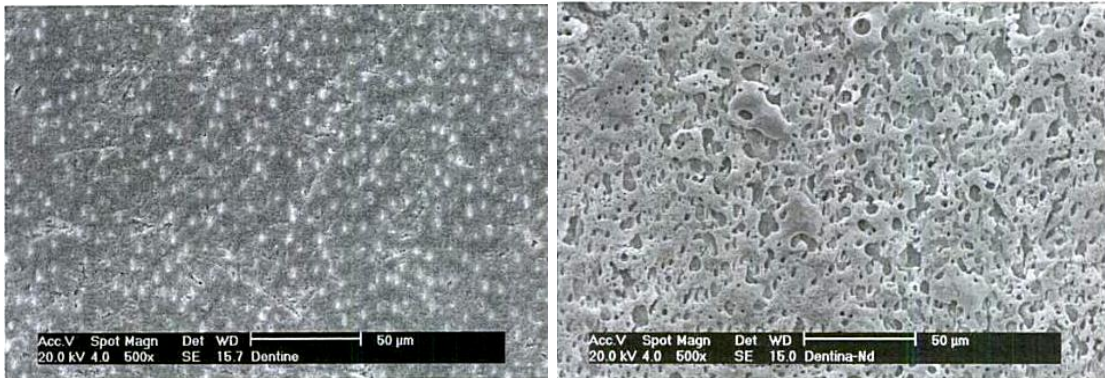


Figura 10: a) Dentina bovina não irradiada b) Dentina irradiada com laser de Nd:YAG, 0,6W, 85J/cm<sup>2</sup>. (BACHMANN *et* ZEZELL 2005)<sup>28</sup>

ODA *et al* (2001)<sup>104</sup> verificaram através de MEV que após restaurar cavidades classe V que receberam um tratamento da superfície com laser de Nd:YAG, o adesivo dentinário utilizado não conseguiu penetração, indicando que houve um vedamento dos túbulos dentinários, e mesmo o condicionamento ácido não foi capaz de reverter este quadro. Com os parâmetros de 0,6 W, 15 Hz e 40 mJ, durante 30s, não foram identificadas linhas de fratura nos espécimes, mas não esclareceram sobre o modo de irradiação do laser, se em contato ou sem contato.

BIRANG *et* YAGHINI (2006)<sup>105</sup> testaram o uso do laser de Nd:YAG para o tratamento de hipersensibilidade dentinária, e observaram uma diminuição no diâmetro dos túbulos dentinários ou a oclusão dos mesmos usando as potências de 0,5 W e 1,0 W, com melhores resultados no grupo de 1,0 W, sendo que a irradiação foi feita no modo não-contato.

BEDINI *et al* (2010)<sup>33</sup> estudaram o efeito do laser de Nd:YAG sobre a microdureza e aspectos morfológicos do esmalte humano irradiados no modo contato com potências de 0,6, 1,2 e 2,4 W. Não obtiveram diferenças significativas quanto à microdureza em nenhum dos grupos. Já na MEV observaram desde uma superfície mais rugosa nas áreas tratadas até a formação de crateras, com alteração de forma, tamanho e disposição dos cristais. Concluíram que a irradiação deve ser feita com parâmetros mais baixos visando preservar a integridade e aumentar a resistência, e com parâmetros mais altos quando se deseja um aumento de retenção na superfície.

BACHMANN e ZECELL (2005)<sup>28</sup> realizaram experimentos onde os cristais de esmalte e dentina foram medidos antes e após a irradiação com lasers de Ho:YLF, ( $\lambda = 2065$  nm; 0,5 Hz; largura temporal = 400  $\mu$ m; DE entre 30-35 J/cm<sup>2</sup>) e Nd:YAG ( $\lambda = 1064$  nm; 10 Hz; E = 100 mJ no painel e 60 mJ na saída da fibra de 300  $\mu$ m; DE = 85 J/cm<sup>2</sup>; PM = 0,6 W), observando diferença significativa após a irradiação com o laser de Nd:YAG (Fig. 11). O crescimento dos cristais é relacionado à eliminação de água e carbonatos.

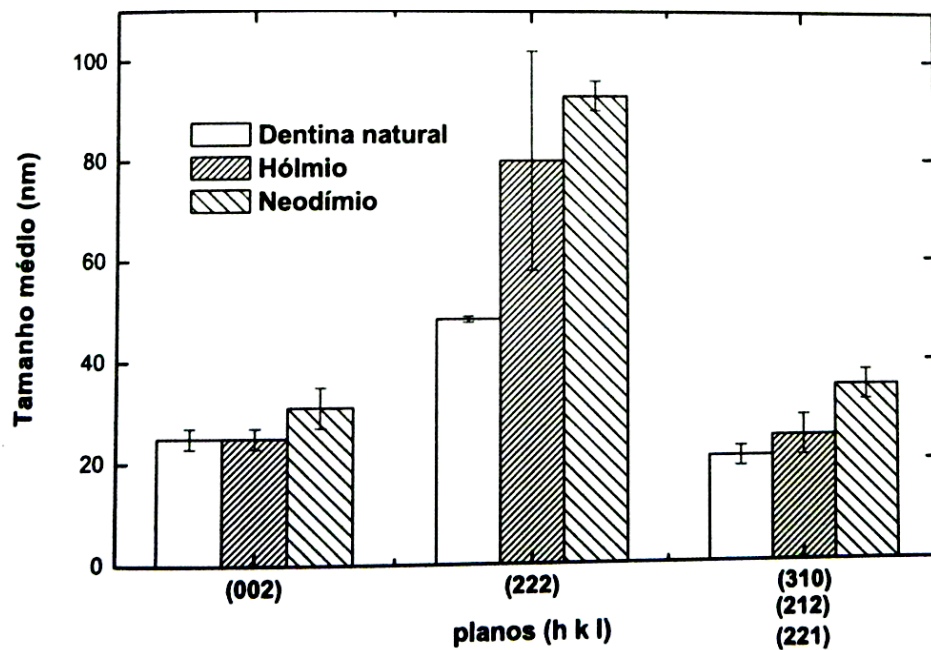


Figura 11: Crescimento dos cristais de HAP após irradiação com lasers Ho:YLF e Nd:YAG. (BACHMAN 2005)<sup>28</sup>

### 3.6 Associação de Flúor e Laser de Nd:YAG

Vários estudos demonstraram que as alterações estruturais pelo aquecimento levam a uma maior incorporação de elementos químicos como o Flúor no tecido dentário

106 - 108

GLAUCHE (2001)<sup>106</sup> testou a incorporação de íons de Sn<sup>++</sup>, Sr<sup>++</sup> e F<sup>-</sup> nos tecidos dentais após irradiar amostras de dentina, cujas *smear layers* foram removidas com EDTA para exposição dos túbulos dentinários, com laser de Nd:YAG, com os parâmetros de 1,5 W, 100 mJ, 15 Hz e densidade de energia de 125 J/cm<sup>2</sup>, no modo contato, verificando uma maior incorporação em relação aos grupos controle.

ANA *et al* (2006)<sup>29</sup> em uma revisão de literatura, selecionando trabalhos listados pela *Medline*, *Web of Science*, *Embase* e *Cochrane*, puderam constatar o efeito preventivo dos lasers de alta intensidade na prevenção de cárie em esmalte, e também que a irradiação com qualquer comprimento de onda utilizado aumenta a incorporação de flúor nos tecidos, sendo mais eficiente que a irradiação somente ou a aplicação de flúor na prevenção de cáries.

MAGALHÃES *et al* (2008)<sup>108</sup> usaram a técnica de perfilometria para testar em blocos de dentina a perda de tecido e a diferença de microdureza por testes de indentação antes, após desafio erosivo e após o tratamento das amostras com: G1 controle; G2 FFA a 1,23% por 4 minutos; G3 verniz de flúor NaF a 2,26% por 6 h; G4 0,5 W Nd:YAG; G5 0,75 W Nd:YAG; G6 1,0 W Nd:YAG; G7 FFA + 0,75W Nd:YAG ; G8 NaF + 0,75 W Nd:YAG. As irradiações laser duraram 30 segundos. Os resultados mostraram que a irradiação com Nd:YAG sozinha não foi capaz de reduzir a erosão em dentina, e que a associação do FFA + Nd:YAG apresentou resultados melhores do que o verniz fluoretado e que o NaF + Nd:YAG.

RIOS *et al* (2009)<sup>31</sup> realizaram um estudo cíclico de desmineralização e remineralização em amostras de esmalte bovino durante 10 dias. Os grupos foram submetidos a tratamentos com: G1 controle; G2 FFA a 1,23% por 4 minutos; G3 verniz de flúor NaF a 2,26%; G4 0,5 W Nd:YAG; G5 0,75 W Nd:YAG; G6 1,0 W Nd:YAG; G7 FFA + 0,75W Nd:YAG; G8 0,75 W Nd:YAG + FFA; G9 verniz flúor + 0,75 W Nd:YAG; G10 0,75 W Nd:YAG + verniz flúor. As irradiações em todos os grupos onde o laser foi usado duraram 30 segundos. As amostras eram mantidas em saliva artificial. Através de perfilometria, obtiveram melhores resultados para os grupos G7 e G8 ao final dos 10 dias, indicando a associação entre o laser de Nd:YAG e o FFA como uma combinação promissora no tratamento da erosão dentária.

### **3.7 Métodos para Diagnóstico e Controle**

Em pesquisas *in vitro* e *in situ* para a prevenção e controle da erosão dentária, a análise das amostras de tecido é realizada com o uso de microscopia eletrônica de varredura, testes de microdureza, perfilometria, microscópios de força atômica, fluorescência, microscopia eletrônica de varredura, entre outros. A maior desvantagem é

a necessidade de obtenção de uma superfície preparada, polida, ao contrário do que acontece na cavidade oral, apesar da erosão produzir uma lesão lisa nas superfícies dentárias. Métodos quantitativos são preferíveis a análises qualitativas, por serem independentes da sensibilidade do operador, excetuando-se as avaliações qualitativas feitas através de equipamentos de precisão como MEV e CLSM, que permitem a visualização de alterações estruturais nos espécimes examinados<sup>109</sup>.

*In vivo*, o exame e controle da erosão e outras patologias é realizado através de exame visual, exame tátil e radiografias. O exame tátil e o visual dependem da sensibilidade do examinador, além de ser de difícil acompanhamento entre sessões<sup>57</sup>. O registro das medidas pode ser feito através de algum dos índices usados para a mensuração da perda de tecido dentário citados anteriormente<sup>53, 54</sup>, mas existe a dificuldade de avaliação nos mesmos pontos no decorrer do tempo, além da dificuldade de se excluir outro fator etiológico que possa favorecer ou agravar o surgimento de lesões de erosão<sup>57 - 59</sup>. Alguns artifícios podem ser usados para auxiliar na tarefa de registro das lesões, como fotografias, modelos de estudo, registros de mordida, entre outros<sup>34,35, 37, 109</sup>.

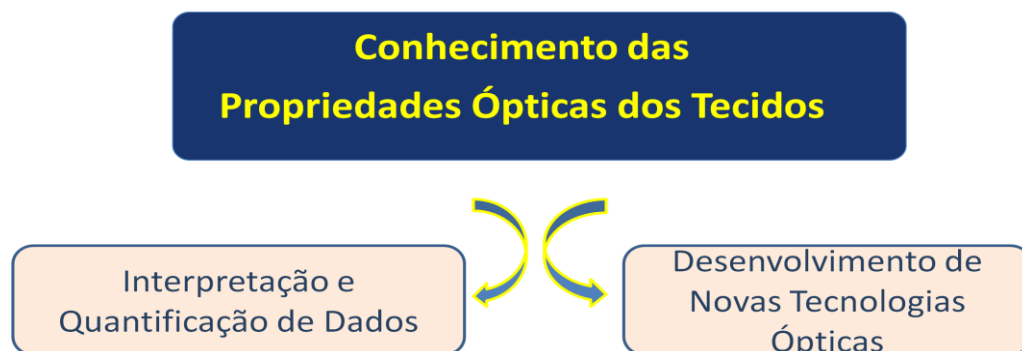
Schluter *et al* (2011)<sup>110</sup> realizaram um levantamento dos métodos disponíveis para caracterização e medições das lesões de erosão em esmalte e dentina, com suas vantagens e limitações. A escolha do método a ser adotado, segundo os autores, depende do estágio da lesão, das alterações esperadas nos tecidos durante o estudo em curso e do tecido envolvido, devido às diferenças histológicas entre o esmalte e a dentina (Tab. 10).

Tabela 10: Métodos para medição e caracterização de erosão em esmalte e dentina (Schluter *et al* 2011)<sup>110</sup>.

	Preparo Superfície	Tipo de Estudo	Modelo	Tecido	Longitudinal	Qualitativo	Quantitativo
Álise Química de minerais	Não	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>	Esmalte Dentina	Sim	X	X
Dureza de Superfície	Sim (melhor)	<i>Erosão</i> <i>Abrasão</i>	<i>In vitro</i> <i>In situ</i> <i>In vivo</i>	Esmalte	Sim		X
Perfilometria	Sim (melhor)	<i>Erosão</i> <i>Abrasão</i> <i>Erosão/Abrasão</i>	<i>In vitro</i> <i>In situ</i> <i>In vivo</i> (modelos)	Esmalte Dentina (mais sensível a erros)	Sim	X	X
LMR	Sim	<i>Erosão</i> <i>Abrasão</i> <i>Erosão/Abrasão</i>	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>	Esmalte Dentina	Sim		X
TMR	Sim	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>	Esmalte Dentina	Sim		X
QLF	Não	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> <i>In situ</i>	Esmalte	Sim	X	X
OCT	Não	<i>Erosão</i> <i>Abrasão</i> <i>Erosão/Abrasão</i>	<i>In vivo</i> <i>In vitro</i> <i>In situ</i>	Esmalte Dentina	Sim	X	X
Ultrassom	Não	<i>Erosão</i> (limitado)	<i>In vitro</i> <i>In situ</i> <i>In vivo</i>	Esmalte	Sim		X
Permeabilidade Iodeto	Sim	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i>	Esmalte			X
TLM	Sim	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i>	Esmalte Dentina	Sim	X	X
CLSM	Sim			Esmalte Dentina		X	X
TEM	Sim	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i>	Dentina		X	
SEM	Sim	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i>	Esmalte Dentina	Não	X	
SPM	Sim	<i>Erosão</i>	<i>In vitro</i>	Esmalte Dentina	Sim	X	X

### 3.7.1 Diagnóstico Óptico

A interação da luz com o tecido irradiado produz um espectro óptico, com representação dos constituintes do tecido que interagem com a luz de alguma maneira, seja através dos fenômenos de absorção, espalhamento ou fluorescência<sup>111</sup>. As propriedades ópticas dos tecidos são importantes para o estudo dos fenômenos biológicos, sem a necessidade de remoção de fragmentos para biópsia. O entendimento destas propriedades ópticas é importante para, além da escolha do equipamento laser mais adequado para ser utilizado em determinado tecido, com certa finalidade, para a pesquisa e desenvolvimento de novas modalidades de diagnóstico óptico, com a correta quantificação e interpretação dos dados coletados durante as análises<sup>112, 113</sup>.



Quando a luz interage com um tecido, parte é refletida ou retro-espalhada, devido à diferença brusca do índice de refração entre o ar e o tecido. A radiação restante pode ser absorvida, transmitida ou espalhada. A água e a HAP são os principais absorvedores na região do infravermelho, e a radiação espalhada é a responsável por efeitos à distância do ponto de incidência<sup>113, 114</sup>.

O espalhamento da radiação ocorre quando a radiação incidente não possui uma frequência de vibração igual às partículas que compõem o tecido, pois se fossem compatíveis (ressonantes) haveria absorção. As partículas do meio sofrem uma vibração forçada, a onda muda de direção, e geralmente a velocidade da radiação diminui. O tipo de espalhamento depende do comprimento de onda incidente em relação ao tamanho das partículas do meio sobre o qual incide. Quando não ocorre perda de energia, e

portanto a radiação espalhada possui o mesmo comprimento de onda inicial, o espalhamento é elástico. Se as partículas são menores do que o comprimento de onda da radiação incidente, acontece um tipo especial de espalhamento, o Rayleigh, com probabilidade de acontecer o retroespalhamento igual à de ocorrer na direção da radiação incidente. Quando as dimensões das partículas do meio são comparáveis ao comprimento de onda, o espalhamento é do tipo Mie, com direcionamento preferencialmente na mesma direção da radiação incidente<sup>114</sup>. Nos tecidos biológicos, o espalhamento não ocorre de uma ou outra forma, mas como uma combinação dos dois tipos<sup>113</sup>. A probabilidade de ocorrer espalhamento diminui com o aumento do comprimento de onda incidente, então comprimentos de onda maiores sofrem menos espalhamento, e por este motivo penetram mais nos tecidos<sup>115</sup>.

O estudo do espalhamento tem sido útil para determinar a perda mineral no esmalte, e o retroespalhamento no tecido dental sadio é dominado pelo espectro da dentina. SCHLUETER *et al* (2011)<sup>110</sup> realizaram uma revisão de literatura sobre os métodos disponíveis para estudo de lesões de erosão, com ênfase nas diferenças histológicas dos tecidos duros nos diversos estágios da lesão. Descreveram as potenciais aplicações e limitações de cada método em: relação ao tipo de superfície (natural ou modificada); natureza do estudo (*in vitro*, *in situ* e clínico); a necessidade de repetição de medidas ao longo do tempo (estudos de desmineralização e remineralização) e a necessidade de dados qualitativos e quantitativos. Segundo os autores, todos os métodos existentes possuem limitações, mas a combinação de métodos poderia preencher as necessidades dos pesquisadores.

KISHNEN *et al* (2008)<sup>112</sup> monitoraram com um espectrofotômetro com sensor de fibra óptica de alta resolução (FOBSS) o retroespalhamento da luz visível da dentina e do esmalte sadios, após desmineralização e remineralização, e mediram a profundidade da desmineralização com microscopia polarizada. O esmalte e a dentina sadios apresentam espectros distintos quando medidos separadamente, mas o espectro da combinação dos dois tecidos mostrou-se muito próximo ao da dentina. Após a desmineralização das amostras, o retroespalhamento diminuiu, e após a remineralização o retroespalhamento aumentou. Neste método, não é possível detectar alterações iniciais decorrentes de desmineralização e remineralização, mas fornece informações

quantitativas que permitem um acompanhamento longitudinal durante o tempo, ou comparações entre elementos dentários.

A molécula de colágeno que compõe os tecidos moles é semelhante às aquelas encontradas no osso e na dentina. De acordo com Bashkatov *et al* (2005)<sup>111</sup>, são as fibras colágenas as principais responsáveis pelo espalhamento da radiação incidente na derme, e provavelmente devem ser consideradas também no estudo do espalhamento que ocorre na dentina. As dimensões e arranjo espacial das moléculas de colágeno são observados nas Fig. 12 e 13<sup>116</sup>.

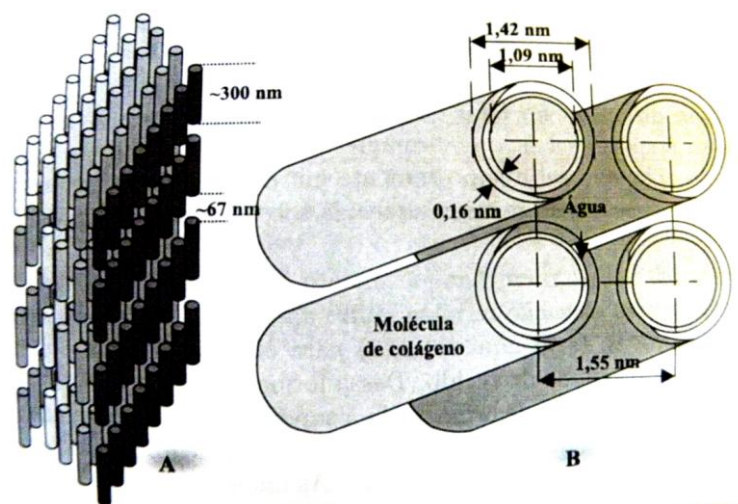


Figura 12: Padrão da organização das moléculas de colágeno nos tecidos mineralizados: A) disposição axial das moléculas ( $\sim 300$  nm) com seus espaçamentos nessa direção ( $\sim 67$  nm); B) disposição radial das moléculas ( $\sim 1,42$  nm), com a representação da camada de água adsorvida ( $\sim 0,16$  nm) e espaçamento intermolecular ( $\sim 0,13$  nm). (BACHMANN *et* ZECELL 2005)<sup>116</sup>

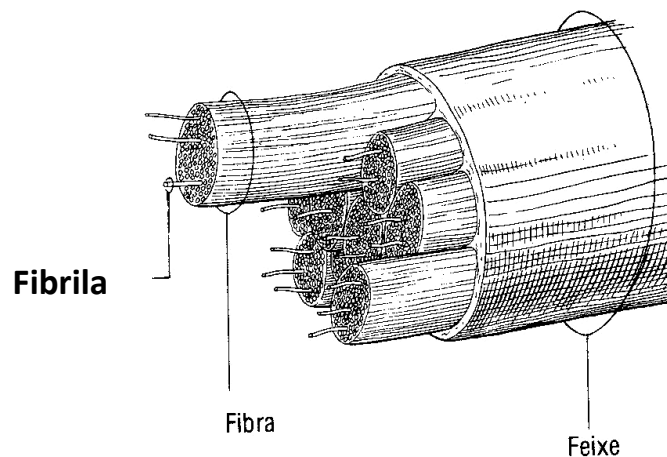


Figura 13: Esquema de um feixe de fibras colágenas, com a disposição das fibras colágenas. Adaptado da Apostila de Biologia do Instituto de Física de São Carlos - 2010



A propagação da luz na dentina é dependente da direção dos túbulos dentinários. A anisotropia da propagação da luz (quando a direção da propagação depende da microestrutura) é devida a múltiplos espalhamentos causados pelos túbulos dentinários, e não por um efeito de “fibra óptica”, onde a diferença do índice de refração entre a dentina peritubular e os túbulos e a dentina intertubular provocaria reflexões totais da luz (necessárias para o funcionamento de uma fibra óptica). KIENLE *et al* (2006)<sup>117</sup> iluminaram discos de dentina obtidos de molares humanos extraídos, com três feixes de laser He-Ne ( $\lambda = 633 \text{ nm}$ ) de mesma intensidade e diâmetros, no sentido ocluso-pulpar e pulpo-oclusal, conforme as Fig. 14 a e 14 b. A propagação da luz foi calculada usando-se o método de Monte Carlo, que leva em consideração múltiplos espalhamentos, mas não o efeito da anisotropia óptica dos tecidos biológicos, fator importante na dentina devido aos túbulos dentinários. Já as fibras colágenas foram consideradas como sendo alinhadas neste estudo, portanto com propriedades de isotropia óptica em relação ao espalhamento. O cálculo da função espalhamento foi feito com uma derivação das equações de Maxwell (usada no cálculo de cilindros infinitos), considerando-se os túbulos como longos cilindros, cujo comprimento é maior que seu diâmetro. A direção de propagação da radiação foi verificada com microscópio óptico. Os autores concluíram que, aplicando-se modelos similares para o estudo da propagação da radiação no esmalte e na polpa dental, é possível calcular a propagação em um dente inteiro, importante para várias aplicações clínicas, inclusive para análises tomográficas no espectro infravermelho.

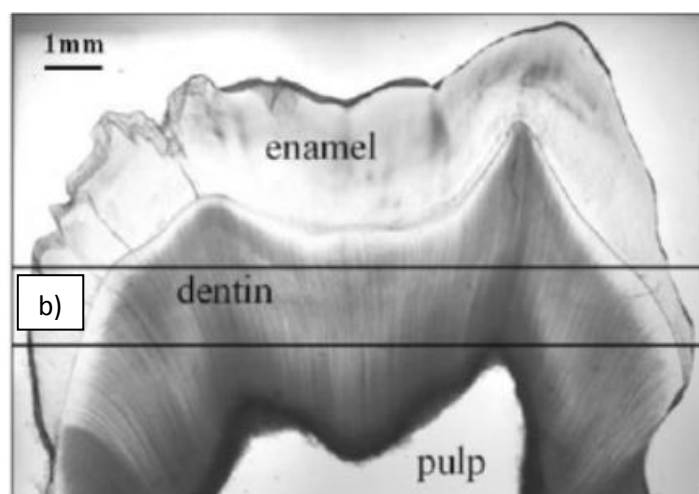


Figura 14 a: Microestrutura dentária. Imagem microscópica de um dente humano mostrando a direção dos túbulos na dentina.

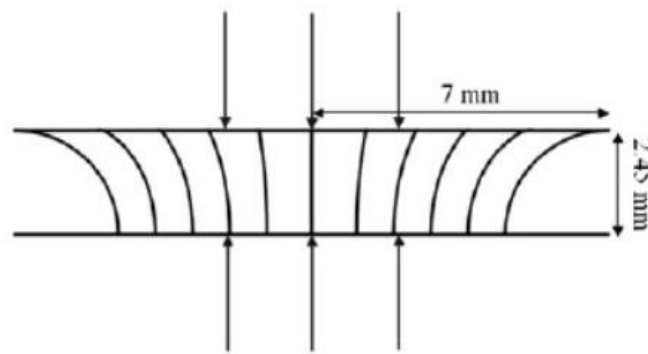


Figura 14 b: Detalhe da irradiação na fatia selecionada na figura anterior, nas direções das setas: pulpo-oclusal e ocluso-pulpar, no estudo de KIENTLE *et al* (2006)<sup>117</sup>

Em um processo de desmineralização, a difusão de cálcio, fosfato e carbonatos para fora do dente resulta em mudanças estruturais, com maior quantidade de água preenchendo os espaços onde houve saída de minerais. A porosidade é aumentada, produzindo um maior espalhamento da luz incidente, resultando em áreas esbranquiçadas como as encontradas em lesões de cárie incipientes.<sup>118</sup>

Comprimentos de onda situados nas faixas do visível (400-780 nm) e do infravermelho próximo (780-1500 nm) são aplicáveis em odontologia para análise das diferenças de propriedades ópticas dos tecidos e as alterações das mesmas quando afetadas patologicamente, realizando diagnósticos ópticos (Fig. 15).

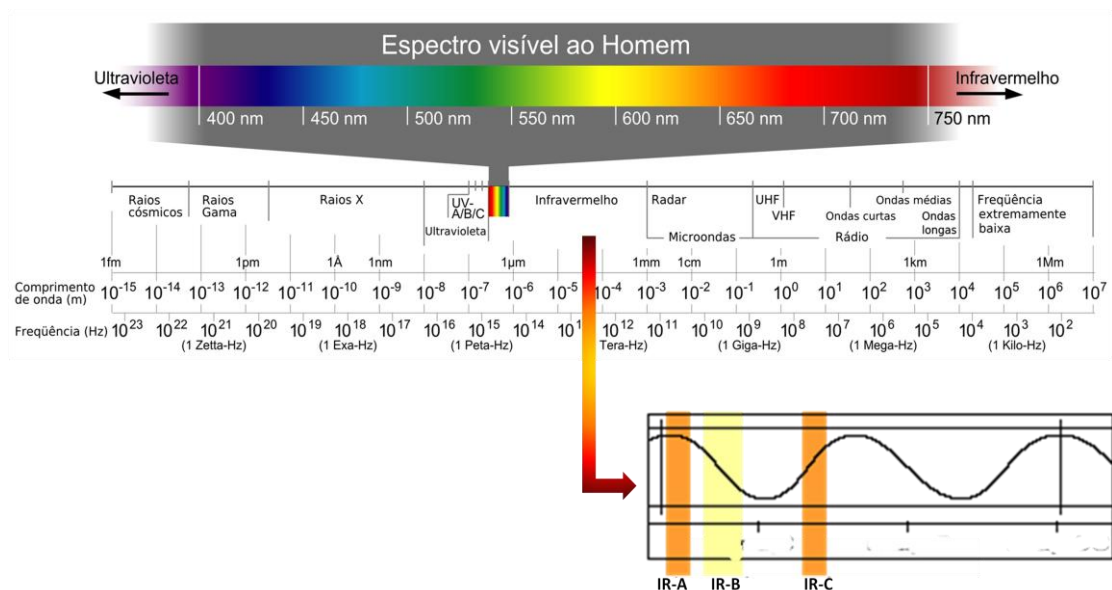


Figura 15: Detalhamento das faixas de comprimento de onda do espectro eletromagnético utilizadas em diagnóstico óptico (adaptado de [www.sellerink.com.br](http://www.sellerink.com.br), acessado em 20/12/2011).

KARLSSON (2010)<sup>118</sup> realizou uma revisão de literatura, onde fez um levantamento dos principais métodos ópticos para detecção de cáries, relacionados na Tab.10 abaixo.

Tabela 10: Sumário de Métodos de Diagnóstico Óptico de Cáries Karlsson(2010)<sup>118</sup>

Optical Coherence Tomography	OCT
Polarized Raman Spectroscopy	PRS
Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography	PS-OCT
Fiber Optic Transillumination	FOTI and DiFOTI
Quantitative Light-induced Fluorescence	QLF
Laser-induced Fluorescence	LF
Transillumination with Near-Infrared light	TI-NIR
Infrared fluorescence	IR fluorescence
Near-Infrared reflectance imaging	NIR reflectance imaging
Terahertz Pulse Imaging Multiphoton imaging	TPI
Time-Correlated Single-Photon Counting Fluorescence Lifetime Imaging	TCSPC FLIM

Lasers de baixa intensidade são utilizados para o diagnóstico de lesões de cárie. Em um método denominado Laser Induced Fluorescence (fluorescência Induzida por Laser), um feixe laser com comprimento de onda entre 488 e 650 nm incide sobre a superfície dentária, e a fluorescência emitida é transformada em valores numéricos. Superfícies desmineralizadas e bactérias apresentam uma maior fluorescência em relação aos tecidos sadios e, portanto, valores maiores de leitura. LUSSI *et al* (1999)<sup>119</sup> avaliaram a precisão de um dispositivo ao comparar as leituras feitas pelo aparelho, por um Monitor Eletrônico de Cáries e com exames histológicos em 105 dentes extraídos que macroscopicamente não apresentavam lesões de cárie, concluindo que o dispositivo a laser pode ser uma valiosa ferramenta para o acompanhamento longitudinal de lesões de cárie e para avaliar o resultado de intervenções preventivas. RODRIGUES (2005)<sup>120</sup> em um estudo cego comparou a acurácia de diagnóstico do aparelho em comparação com o exame visual, concluindo que o equipamento foi eficiente na detecção da perda mineral,

mas ineficiente em quantificar esta perda. É consenso que a técnica apresenta grande sensibilidade, porém pouca especificidade podendo apresentar falsos resultados na presença de manchas e cálculos, sendo de grande auxílio como meio complementar de diagnóstico <sup>121</sup>. Aparentemente a técnica captura em especial a fluorescência de porfirinas e outros produtos fabricados pelas bactérias e não a causada pela desmineralização em si, pois não é possível detectar desmineralizações provocadas por ácidos de origem não bacteriana *in vitro* <sup>118</sup>. Esta técnica é comercialmente disponibilizada pela KaVo® Dental GmbH (Fig.16).

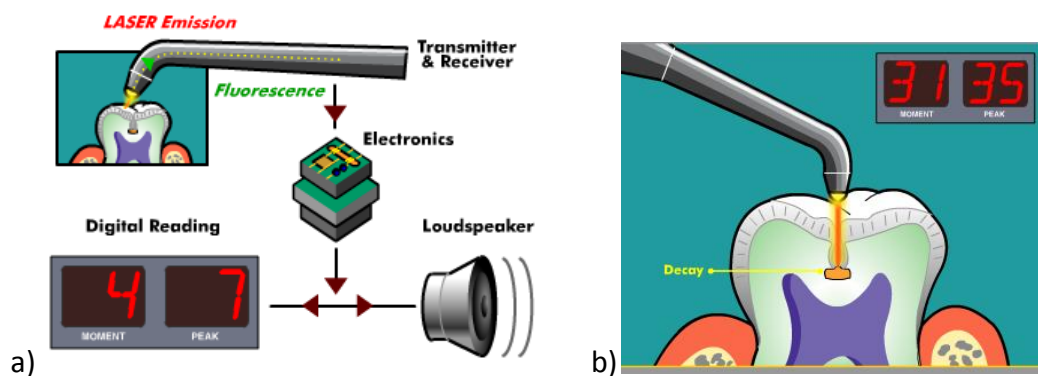


Figura 16: Esquema de funcionamento do DIAGNOdent® (Kavo), mostrando diferenças numéricas entre área sadia(a) e desmineralizada (b). Disponível em: <http://www.d-p-s.uk.com/odiagno.htm>, acessado em 21/12/2011.

A autofluorescência (capacidade de reemitir luz em um comprimento de onda diferente da incidente) dos tecidos dentais diminui com a desmineralização. Pelo aumento de porosidade, acontece um maior espalhamento da radiação incidente e também da fluorescência emitida. No método QLF, uma radiação com comprimento de onda entre 290-450 nm, emitida por uma câmera intra-oral, incide sobre a superfície. A imagem capturada é convertida para preto-e-branco, e a área afetada é reconstruída por interpolação de tons de cinza, através do software: QLF 1.97e Inspector Research Systems BV, Amsterdam, Holanda. A diferença entre os valores reconstruídos e medidos fornecem informações sobre a média de alteração da fluorescência, da área da lesão e da severidade da lesão (Fig. 17). É uma técnica comercialmente disponível, mas a sua aplicabilidade em dentina ainda não foi investigada, pois a origem da fluorescência ocorre

quando a radiação atravessa o esmalte translúcido e excita os fluoróforos na junção amelo-dentinária, e quando a dentina é removida há perda da fluorescência<sup>110, 118, 122, 123</sup>.

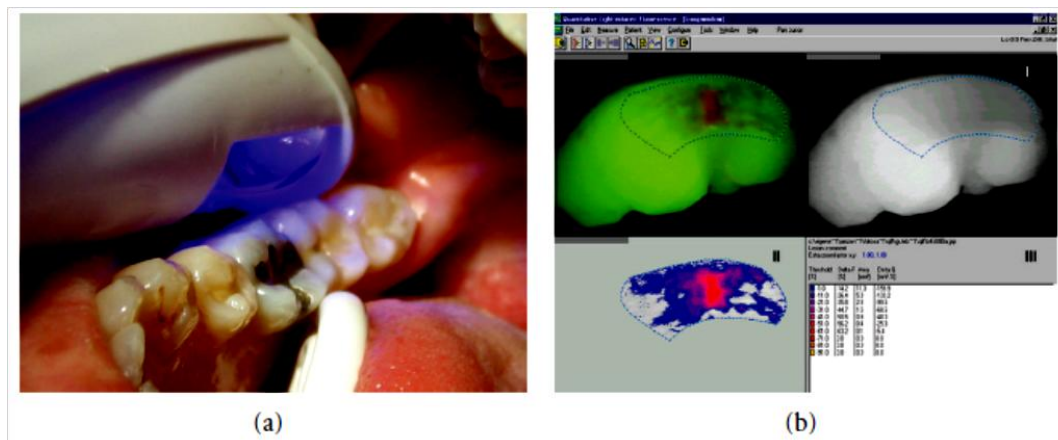


Figura 17: a) Luz com comprimento de onda entre 290-450 nm é liberada por uma fibra óptica a partir da fonte de luz por uma peça de mão com uma câmera CCD. (b) A imagem pode ser captada e armazenada para análise posterior. .Karlsson (2010)<sup>118</sup>

O sistema DIFOTI (Fig. 18) usa uma luz branca de alta intensidade para iluminar os tecidos dentários, mas sua penetração é limitada a 1 a 2 mm de profundidade devido ao alto espalhamento, assim como acontece nas técnicas QLF e LF<sup>122</sup>.

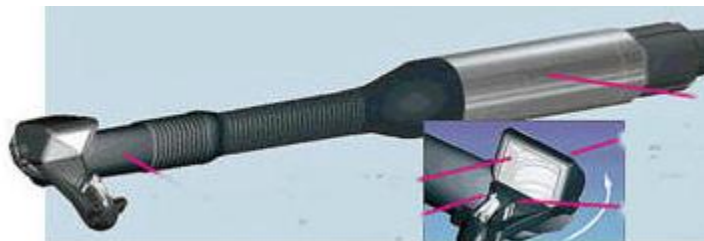


Figura 18: Sistema DIFOTI

A transiluminação por NIR (Fig.19) utiliza uma fonte de luz com comprimento de onda na faixa entre 780 – 1550 nm, que penetra mais nos tecidos por sofrer menos espalhamento e por ser o esmalte dental um tecido transparente nesta faixa de radiação eletromagnética<sup>118</sup>. Manchas e pigmentações não são vistas durante a TI-NIR porque as moléculas orgânicas responsáveis pelas pigmentações não absorvem os comprimentos de onda do NIR, facilitando a identificação de áreas de desmineralização, ao contrário do que ocorre na LF<sup>123</sup>.

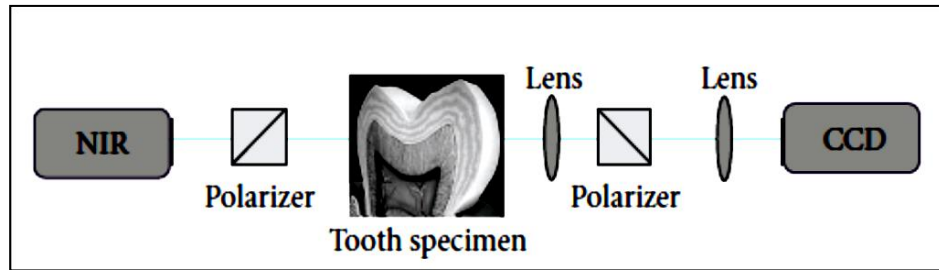


Figura 19: O dente é iluminado com a radiação NIR. Polarizadores bloqueiam a luz ambiente por saturação do detector, um dispositivo CCD. KARLSSOM 2010<sup>118</sup>

O aumento do coeficiente de espalhamento do esmalte quando há perda mineral faz com que a região apareça na TI NIR como uma área escura, em uma imagem familiar ao clínico (Fig. 20)<sup>118, 122, 123</sup>.

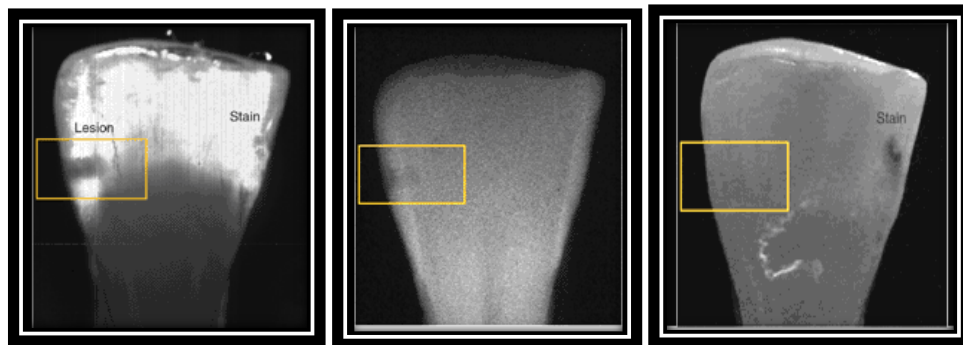


Figura 20: a) TI NIR

b) Rx

c) exame clínico (FRIED 2003)

Conforme AMAECHI<sup>35</sup>, não há até o momento nenhuma técnica comercialmente disponível que atenda a todos os requisitos para o diagnóstico e o acompanhamento das lesões de erosão dentária, permitindo um controle qualitativo e quantitativo das lesões adequado para uso intra-oral. Limitações em relação aos tecidos que se consegue estudar, dificuldades em relação ao uso *in vivo* e adequação ao uso na cavidade oral são obstáculos que ainda precisam ser superados.

### 3.8 Tomografia por Coerência Óptica (OCT)

A OCT é uma técnica interferométrica de alta resolução, que produz imagens em tempo real, sem contato, *in vivo*, permitindo uma análise qualitativa e quantitativa da saúde dos tecidos biológicos, com a vantagem de não usar radiação ionizante. A penetração é da ordem de milímetros, permitindo a visualização de microestruturas a

camadas profundas, com resolução axial e lateral da ordem de micrometros. Um sistema óptico ilumina a amostra e recolhe a luz retro-refletida ao longo da direção de propagação do feixe incidente na amostra<sup>39, 124, 125</sup>.

As técnicas de OCT utilizadas para estudo dos tecidos dentais geralmente utilizam comprimentos de onda entre 840 e 1310 nm, resultando em profundidades de penetração entre 0,6 a 2 mm, com resolução variando entre 10 a 17  $\mu\text{m}$ <sup>115</sup>.

As imagens de OCT dependem do comprimento de onda ( $\lambda$ ) utilizado para irradiar o tecido, pois os fenômenos de absorção, transmissão e espalhamento acontecem em função do  $\lambda$ . Na região de  $\lambda = 600 \text{ nm}$  a  $\lambda=1500 \text{ nm}$  (final do espectro visível e IR-A), os principais cromóforos são os mesmos da região visível do espectro (oxiemoglobina, hemoglobina e melanina), porém o espalhamento predomina sobre a absorção. Esta região do espectro é denominada Janela Terapêutica ou de Diagnóstico, com uma maior profundidade de penetração da radiação. Nesta faixa do espectro os tecidos moles são altamente espalhadores e os tecidos duros pouco absorvedores<sup>39, 99, 126</sup>.

A quantidade de radiação que será refletida depende do ângulo de incidência. Quanto mais vertical em relação à superfície da amostra ou tecido, menor será a porção refletida. Dependendo da diferença entre os índices de refração de dois meios (por exemplo, ar / tecido), a velocidade da luz incidente diminui, causando uma mudança na direção do feixe. Em minerais anisotrópicos, cujas propriedades ópticas são diferentes dependendo da direção, a radiação incidente sofre o fenômeno de dupla refração (birrefringência), com diferentes velocidades e direções devido aos ângulos de refração diferentes<sup>126</sup>.

A variação da seção de choque de espalhamento é a primeira fonte para a construção de imagens de OCT. Uma propriedade física que altere a amplitude, fase ou polarização do sinal da amostra pode ser utilizada para carregar informações sobre as propriedades do meio. As fibras colágenas apresentam comportamento birrefringente e portanto causam alterações no sinal proveniente da amostra, que será combinado com os sinais provenientes do espelho de referência. As polarizações das birrefringências podem

ser estudadas por reflectometria de baixa coerência, e os valores comparados entre tecidos saudáveis e alterados por alterações térmicas ou processos de desmineralização<sup>39</sup>

O interferômetro de Michelson é o mais comum utilizado em OCT nos dias de hoje. Um feixe luminoso, proveniente de uma fonte óptica de grande largura espectral, é dividido por um divisor de feixes, onde 50% iluminarão um espelho de referência e os outros 50% incidirão sobre a amostra que se deseja estudar. A radiação incidente sobre a amostra sofrerá espalhamento e retroespalhamento, que será re combinado com a radiação refletida pelo espelho de referência, sofrendo interferências construtivas e destrutivas dependendo da fase, da amplitude e frequência da onda refletida. A soma das ondas que chegam ao interferômetro possuem as informações espectrais da amostra. Estas interferências geram um sinal elétrico, interpretado por um software e convertido em imagens<sup>39</sup>.

A Fig. 21 mostra um esquema completo de OCT, e a Fig. 22 uma esquematização da imagem que é gerada no computador à medida que a varredura é realizada.

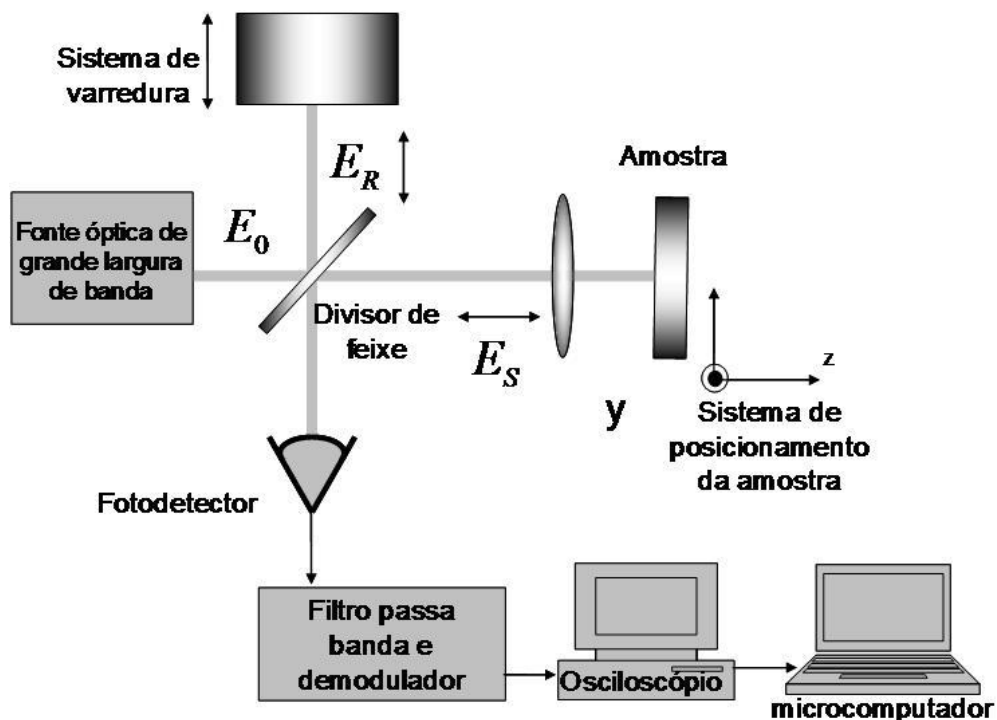


Figura 21: Principais componentes de um sistema de Tomografia por Coerência Óptica. (Freitas 2007)<sup>39</sup>



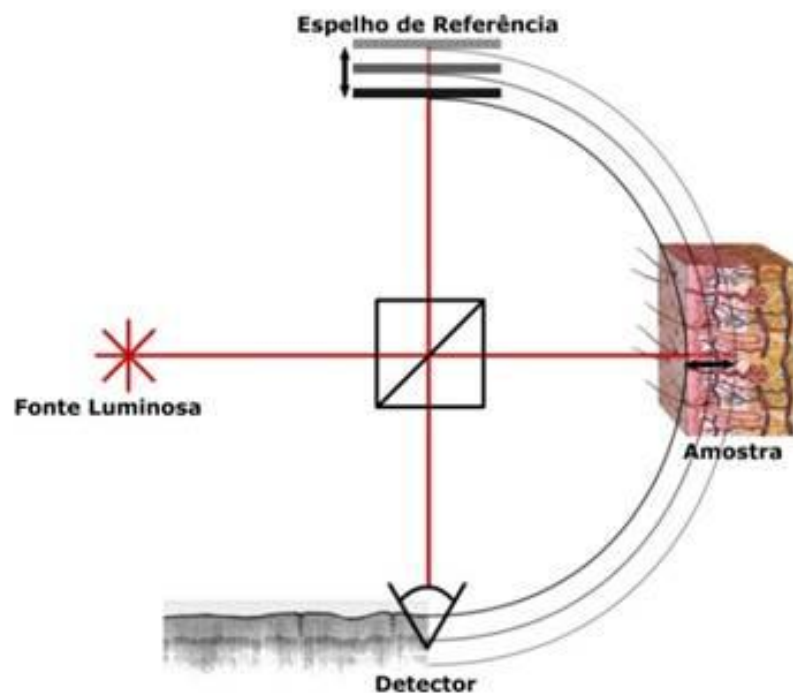


Figura 22: Esquemática da formação da imagem de OCT à medida que a amostra é varrida. (Raele 2009)<sup>127</sup>

A intensidade do sinal retroespalhado normalmente é apresentado em escala logarítmica, com a cor branca representando um sinal de alta intensidade e a preta um sinal de baixa intensidade, com variações intermediárias de tons de cinza . Geralmente, determina-se um limiar, onde os valores abaixo são substituídos pela cor preta. Podem também ser usadas cores falsas, como as cores do arco-íris para facilitar a visualização de tênues diferenças entre as estruturas na amostra. O vermelho seria o sinal de maior intensidade (alto espalhamento) e os azuis de baixa intensidade (baixo espalhamento)<sup>39,127</sup>.

As alterações das propriedades ópticas dos tecidos causadas pelo efeito de ácidos, como espalhamento e birrefringência, podem ser detectadas precocemente pela técnica de OCT, tornando-a uma poderosa ferramenta para diagnosticar e acompanhar quantitativa e qualitativamente a saúde dos tecidos orais. As alterações ópticas podem ser detectadas pela OCT antes que técnicas convencionais de diagnóstico possam detectar alterações estruturais<sup>39, 109, 125,128</sup>.

A desmineralização provoca perda mineral, formando porosidades de tamanhos variados, o que vai aumentar a quantidade de retroespalhamentos causados por diferenças no índice de refração na interface dente/poro, aumentando o sinal de OCT coletado <sup>129</sup>. O coeficiente de espalhamento é menor do que no tecido sadio, resultando em uma penetração maior da radiação na amostra <sup>39, 129</sup>.

Atualmente, existem vários equipamentos comercialmente disponíveis para o uso dermatológico, endoscópico e oftalmológico. Em oftalmologia, milhões de exames clínicos já foram realizados, por permitir imagens transversais e volumétricas da retina e da córnea com resolução não conseguida por outros tipos de exame <sup>130</sup>. Equipamentos para uso endoscópico e dermatológico também encontram-se disponíveis.

Na odontologia o uso é restrito a pesquisas, por não existir ainda um equipamento que permita o uso intra-oral, resolvendo as limitações de acesso causadas pela anatomia da cavidade oral e a necessidade de esterilização para evitar infecção cruzada.

COLSTON *et cols* (1998)<sup>125</sup>, publicaram um estudo onde apresentaram uma peça de mão desenvolvida para uso intra-oral (Fig. 23), mas encontraram limitações quanto ao tempo de aquisição das imagens, a necessidade da eliminação de “artefatos” causados pela birrefringência dos tecidos e controle de infecção. Não havia uma ponta que pudesse ser destacada e autoclavada, só permitindo o uso de um filme como barreira física.

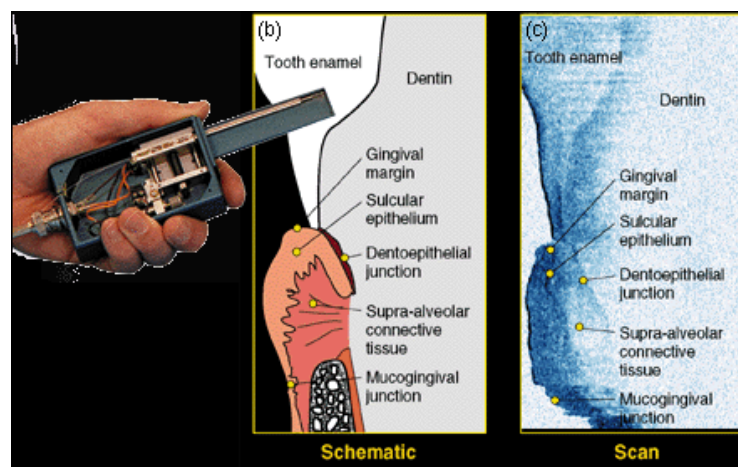


Figura 23: Foto do scanner desenvolvido por Colston *et cols* <sup>125</sup> para uso intra-oral, esquema dos tecidos orais e a imagem conseguida por OCT.

FREITAS *et al* (2006) <sup>128</sup>, utilizando um sistema de OCT mostraram, ao analisar terceiros molares extraídos onde foram induzidas lesões de cárie, ser possível visualizar internamente estruturas do tecido dentário. Conseguiram visualizar o tecido sadio, a junção amelodentinária e detectar lesões precoces de cárie artificial, sugerindo também que seria possível a medição da variação da refletividade entre interfaces de tecidos.

WILDER-SMITH *et al* (2009) <sup>129</sup> utilizaram um dispositivo comercial (Niris® OCT) e sonda óptica (Imalux Corporation, Cleveland, OH, USA), que permite uma aquisição em tempo real de imagens combinadas de vídeo e OCT para avaliar a diminuição da perda de tecido dentário em pacientes portadores de RGE após tratamento com esomeprazol. Para o posicionamento da sonda, produziram uma guia feita com material de moldagem, onde com uma broca fizeram perfurações do diâmetro exato, garantindo uma correta repetição tanto da localização como da angulação no momento da leitura. Os elementos dentários avaliados foram os incisivos centrais e laterais, superiores e inferiores, caninos superiores e inferiores e primeiros pré-molares e molares, e quaisquer outros dentes que apresentassem lesões severas de erosão. As superfícies vestibulares e linguais foram alternadas entre os elementos avaliados. As leituras de OCT forneceram informações sobre a espessura do esmalte e o sinal de retroespalhamento das superfícies e subsuperfícies.

LIANG *et cols* desenvolveram um equipamento multimodal para diagnóstico precoce de lesões de cárie com sensibilidade e especificidade elevados, integrando reflectância visível, fluorescência e OCT. As imagens se complementam para a detecção de alterações como cáries, cálculos dentários, manchas e outras alterações nas propriedades dos tecidos dentários (Fig. 24) <sup>131</sup>. Porém, ainda não se encontra disponível comercialmente.

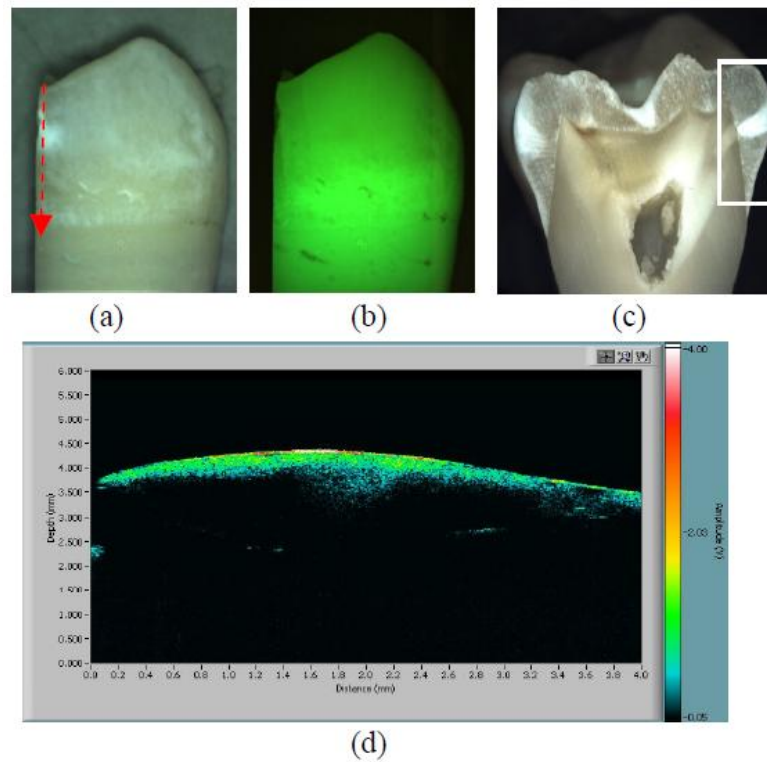


Figura 24: Sistema multimodal para diagnóstico: Reflexão (a), fluorescência (b), e imagens de OCT (d) de um dente seccionado. O dente é mostrado em (c). A seta indica a posição e direção da leitura de OCT (LIANG *et cols* 2007)<sup>124</sup>.



#### 4.1 Amostras de dentina

Para o desenvolvimento deste estudo *in vitro*, foram utilizados 120 dentes bovinos uniradiculares. Diante da dificuldade do Banco de Dentes em fornecer terceiros molares humanos em boas condições para o uso em pesquisa (com ausência de tecido cariado, em boas condições de armazenagem, e confiança no tempo de extração), optou-se por utilizar os dentes bovinos, tendo assim, a possibilidade de realizar repetições de amostras quando estas não se apresentarem adequadas. O cuidado no armazenamento dos dentes bovinos anterior à realização do trabalho e durante o mesmo deve ser o mesmo relacionado aos dentes humanos.

A literatura mostra que dentes bovinos são substitutos aceitáveis para trabalhos relacionados à abrasão, erosão, resistência de união e radiologia<sup>108, 132 - 136</sup>. Também foi demonstrada a viabilidade de uso de dentes bovinos em estudos de Espectroscopia de Transmissão, através de comparações entre os espectros de absorção e o estudo das bandas de absorção<sup>103</sup>.

Os dentes foram limpos com curetas Gracey 11-12 e 13-14 (Hu-Friedy) para remoção dos tecidos residuais aderidos e submetidos à profilaxia com escovas tipo Robinson, em baixa rotação, com pedra-pomes (Pedra Pomes Extra-fina, SS White; Rio de Janeiro, RJ, Brasil), sendo em seguida, lavados com jato ar/água. Uma vez limpos, os dentes foram mantidos em um vidro com água destilada, substituída diariamente, para permanecerem hidratados, à temperatura de 4°C.

Inicialmente foi realizada a separação das raízes das coroas com auxílio de disco diamantado dupla-face em baixa rotação. Após o corte, a face vestibular de cada dente foi desgastada em politriz (Buelher, Lake Bluff, IL, Estados Unidos) com lixas de granulação decrescente (120, 400, 600 – Buelher, Lake Bluff, IL, Estados Unidos) até a exposição da dentina superficial. Este procedimento teve como finalidade remover o esmalte superficial e padronizar a camada de esfregaço no substrato dentinário.

Após o desgaste superficial, uma marcação correspondente a delimitação de corte dos espécimes foi realizada com grafite 0,5 mm e com o auxílio de paquímetro digital (Mitutoyo, Sul Americana, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, os dentes foram

posicionados em cortadeira metalográfica (LabCut, Extec, Enfield, CT, Estados Unidos) para secção dos quadrados de dentina com dimensões de 4 x 4 x 2 mm.

As amostras foram lavadas e armazenadas em água destilada. Dessa forma, foi obtido de cada dente um bloco de dentina, totalizando 120 amostras, distribuídas conforme a Tab. 1. Os blocos foram incluídos em resina acrílica incolor e polidos com lixas abrasivas até a granulação 1200, finalizando com disco de feltro e pasta de diamante.

Em cada amostra foi colado no centro um disco de fita adesiva (Scotch/3M, São Paulo, SP, Brasil), com diâmetro de 2,0 mm no centro geométrico da lesão. Foi feito um sulco com broca odontológica (2200 KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em 2 bordas opostas das amostras, preenchidos com caneta marcadora permanente (Faber-Castell, Brasil) indicando qual a direção da leitura com OCT (Dia 0 – OCT1), para que fosse repetido em todas as leituras realizadas. Todas as superfícies de repouso foram pintadas com verniz ácido resistente (Colorama, Com Exp Ind Ltda., São Paulo, Brasil). Após a secagem, os discos adesivos foram removidos e a superfície limpa com água deionizada para a remoção de resíduos. Na área que permaneceu com a dentina exposta foi realizado o desafio erosivo para o desenvolvimento das lesões de erosão.

As amostras foram separadas em 8 grupos (n=15), numeradas e armazenadas individualmente em um recipiente com divisões internas e mantidas em água deionizada (Fig. 25) para a realização dos tratamentos propostos, sendo que um deles não sofreu nenhum tratamento e avaliados de acordo com a Tab. 11.

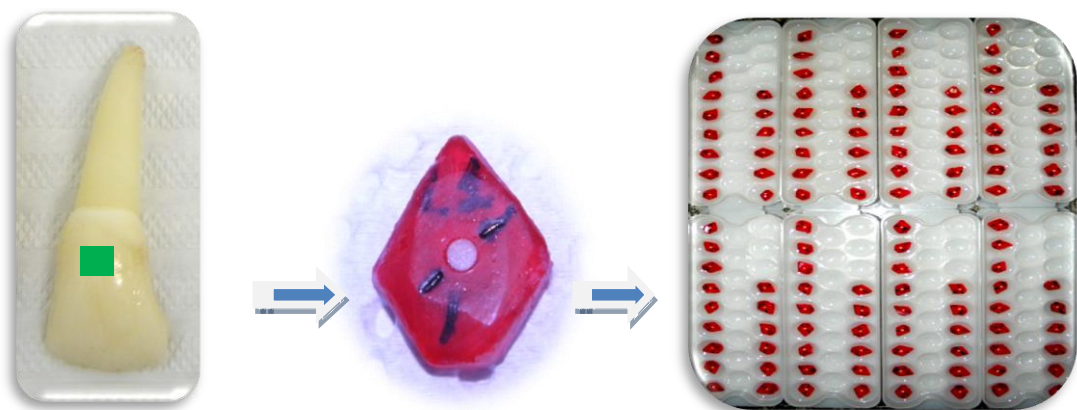


Figura 25: Incisivo bovino com a área selecionada (em verde) para obtenção das amostras; amostra pronta e identificada; e armazenamento das amostras individualmente dentro de cada grupo.

## 4.2 Desafio erosivo

Para induzir a erosão ácida *in vitro*, segundo a metodologia empregada por Ramalho (2010)<sup>137</sup>, as amostras foram inseridas duas vezes ao dia (às 08:00 h a primeira imersão e às 20:00 h a segunda imersão), durante 5 dias, em 80 ml de solução de ácido cítrico 0,05M (Ácido cítrico monohidratado –  $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ;  $M=210,14g/mol$ ) pH 2,3, manipulado no Laboratório de Bioquímica da FO-USP, em temperatura ambiente por 20 minutos. Após este tempo, foram lavadas em água corrente por 15 segundos e armazenadas em água deionizada, em temperatura ambiente.

Todas as amostras foram então novamente analisadas no dia 5 (OCT2), após serem submetidas aos 10 desafios ácidos (2 vezes ao dia, durante 5 dias), antes de ser feito qualquer tipo de tratamento. Visualmente, as amostras não apresentavam as lesões de erosão, e por este motivo foram submetidas a mais um ciclo de desafio ácido com duração de 5 dias, e as lesões erosivas tornaram-se visíveis. No dia 10 foi então feita uma nova leitura com OCT nas 120 amostras (OCT3) e realizados os tratamentos correspondentes a cada grupo.

Após os tratamentos, os grupos foram submetidos a novos desafios ácidos, nos mesmos moldes do primeiro (2 desafios a cada dia), durante mais 10 dias. As leituras por OCT foram feitas 05 dias após os tratamentos (dia 15 - OCT 4), após 07 dias (dia 17- OCT5) e após o 10º dia (dia 20 - OCT6), para mensurar a perda de estrutura dentária, buscando assim verificar a efetividade dos tratamentos realizados. No total, as amostras foram submetidas a 40 desafios ácidos.

## 4.3 Aplicação de Fluoreto de sódio

As amostras dos grupos F, F + L1, F + L2 e F+L3 receberam aplicação de fluoreto de sódio a 2% (Flutop GEL Neutro – SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) durante 4 minutos. As amostras do grupo F foram lavadas com água destilada após os 4 minutos durante 10 segundos e secas com papel absorvente. Nos demais grupos, nos quais houve associação com o laser de Nd:YAG (F + L1, F + L2 e F + L3), a aplicação do fluoreto de sódio foi realizada previamente à irradiação com o laser de Nd:YAG, nos diferentes parâmetros empregados, de acordo com a Tab.12.



#### 4.4 Irradiação das amostras de dentina

O laser utilizado neste estudo foi o laser de Nd:YAG (Fig. 26) Power Laser™ ST6 (Lares Research®, Chico, CA, Estados Unidos), de propriedade do LELO, FO-USP, adquirido por importação da FAPESP (processo **07/55487-0**). O equipamento é portátil, acompanhado de acessórios (fibra óptica, cânulas e caneta para a fibra, óculos de proteção, manual, placa de advertência e chave de *interlock*). Possui as seguintes especificações:

- Comprimento de onda: 1064 nm
- Potência variável entre 0,5 a 6 W
- Taxa de repetição: 10 Hz
- Taxa de Pulso variável: 10, 15, 20, 30 e 50 pps
- Duração de Pulso variável: 120 a 300  $\mu$ s
- Luz guia: 635 nm, 5 mW
- Fibra óptica de quartzo: 400  $\mu$ m de diâmetro
- Peso: 22,7 kg / 50 Lbs

As irradiações foram realizadas em modo contato, pulsado, focalizado, perpendicular, na região pré-estabelecida, fazendo-se movimentos de varredura nos sentidos horizontal e vertical. Os parâmetros utilizados, de acordo com pesquisas anteriores<sup>108</sup> foram:

- Potências utilizadas: 0,50 W, 0,70 W e 1W
- Taxa de Repetição: 10 Hz
- Largura de Pulso: 120  $\mu$ s
- Fibra óptica com 400  $\mu$ m diâmetro = Área ( $\pi r^2$ )= 12,566 x 10<sup>-4</sup> cm<sup>2</sup>



Figura 26: Laser de Nd:YAG Power Laser da Lares Reasearch

Foram realizadas quatro irradiações de 10 segundos (duas em cada sentido), totalizando uma irradiação total de 40 segundos, abrangendo toda a superfície da lesão formada, respeitando-se um intervalo de 10 segundos entre as irradiações para que permitir a relaxação térmica do tecido. A Tab.12 descreve os protocolos utilizados, baseados em estudos anteriores<sup>104, 105, 108</sup>.

Tabela 12: Descrição dos protocolos de irradiação com o laser de Nd:YAG.

GRUPO	Potência (W)	Taxa de Repetição (Hz)	Tempo (s)	Energia (mJ)	Densidade de Energia (J/cm <sup>2</sup> )
L1	1,0	10	10	100	79,57
L2	0,70	10	10	70	55,70
L3	0,5	10	10	50	39,78

Anteriormente a todas as irradiações, foram realizadas medições da quantidade real de potência entregue através de um medidor de potência (Coherent, Newport, Estados Unidos). Da mesma forma, o uso do equipamento laser foi executado obedecendo a todas as normas de biossegurança.

#### 4.5 Avaliação da progressão das lesões de erosão por OCT

O sistema de OCT utilizado neste estudo foi o Modelo OCP930SR (Fig.27), Marca Thorlabs Inc., Newton, USA, de propriedade do IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, Brasil), com as seguintes características, sob responsabilidade do Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas.

- Fonte de luz: SLED (super-luminescent light-emitting diode)
- Resolução lateral: 6,0  $\mu\text{m}$
- Resolução em profundidade no ar: 6,0  $\mu\text{m}$
- Números de imagens por segundo: 3 fps (2000 x 512 pixels)

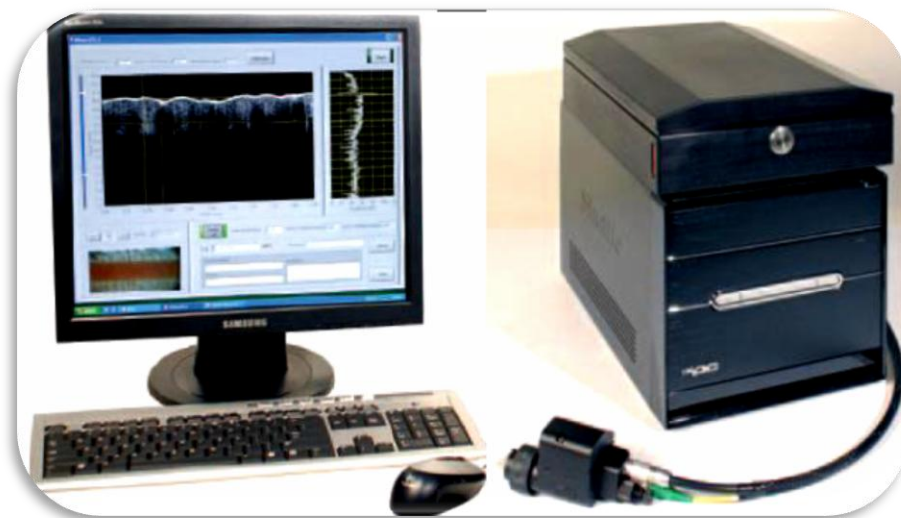


Figura 27: Equipamento OCT Thorlabs Inc

As amostras foram posicionadas no sistema de OCT de forma que a varredura de imagem fosse tangencial à janela formada pelo esmalte. A aquisição das imagens foi realizada no centro geométrico das áreas sob investigação, fixadas sobre uma lâmina de microscópio, paralelas à base e centralizadas em relação à lente da OCT (Fig. 28 a e 28 b).

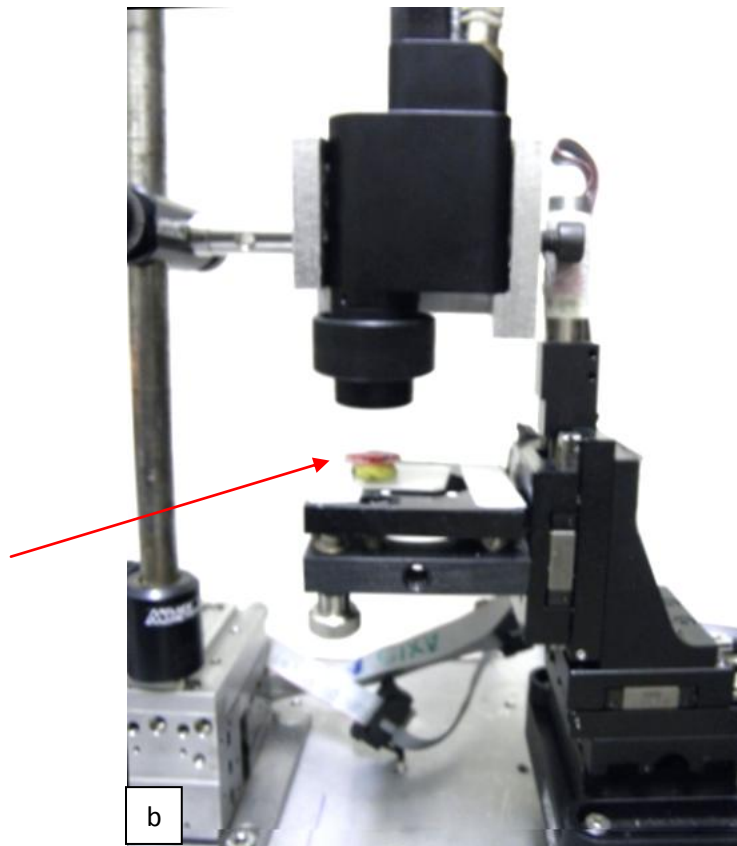
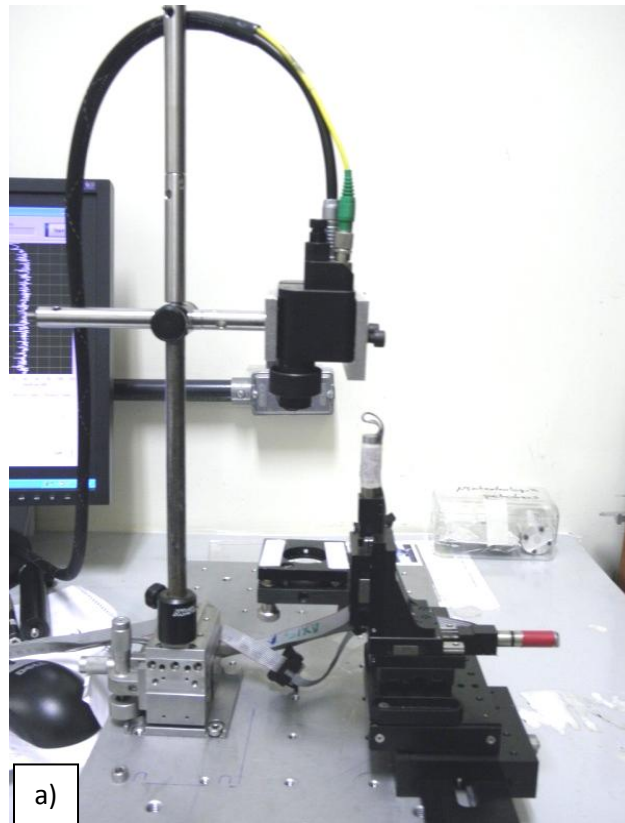


Figura 28: a) Equipamento de OCT; b) Detalhe da amostra posicionada sobre a lâmina de microscópio no momento da leitura.

Cada leitura efetuada gera uma imagem de vídeo da amostra, uma imagem em tons de cinza do corte transversal da amostra e uma leitura da intensidade do retroespalhamento da radiação (Fig. 29 a 32). Cada coluna da imagem da seção transversal é formada pela intensidade do sinal de retroespalhado coletado em diferentes posições na amostra.

Neste estudo foram utilizadas as imagens dos cortes transversais das amostras para calcular a perda de estrutura dentinária e para o acompanhamento das variações do sinal captado em função da desmineralização provocada nas amostras.

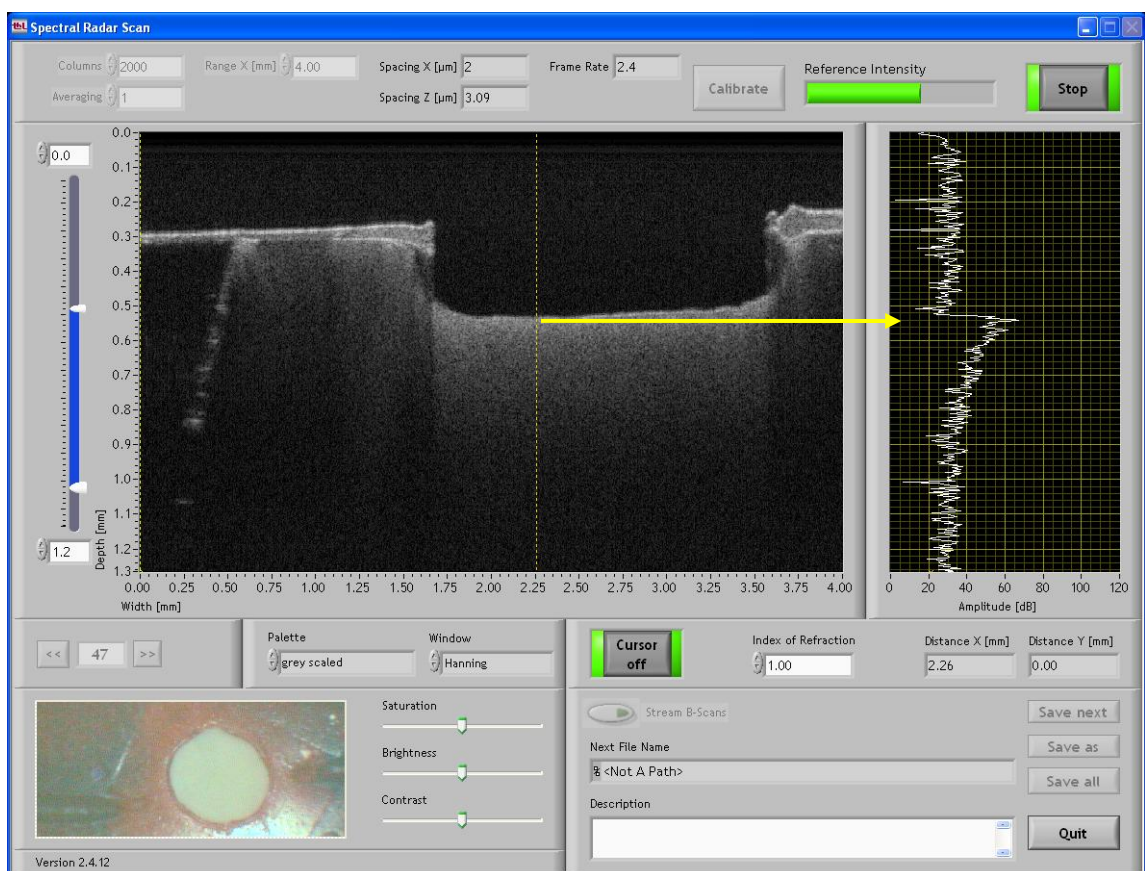


Figura 29: Tela gerada pelo programa Spectral Radar Scan durante a leitura da amostra por OCT. A linha tracejada amarela corresponde ao ponto de leitura no momento. O gráfico à direita da tela registra o sinal de OCT. O aumento da amplitude do sinal (seta amarela) corresponde à interface ar / amostra.

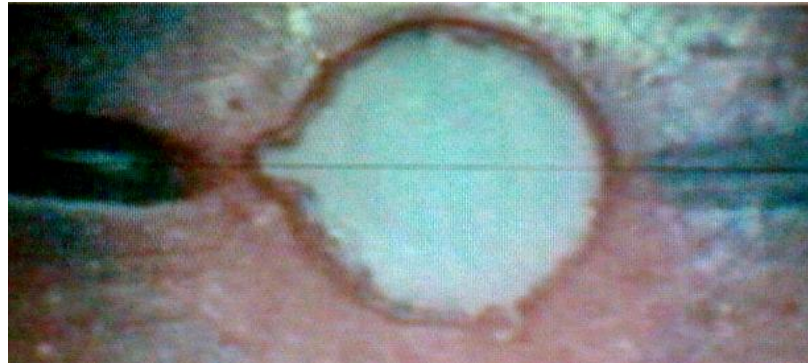


Figura 30: Detalhe do posicionamento da amostra no vídeo para leitura

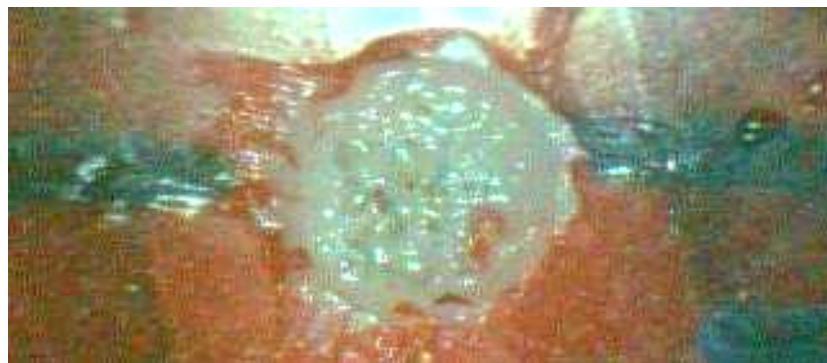


Figura 31: Presença de crateras na superfície da amostra após irradiação com laser de Nd:YAG (1 W)

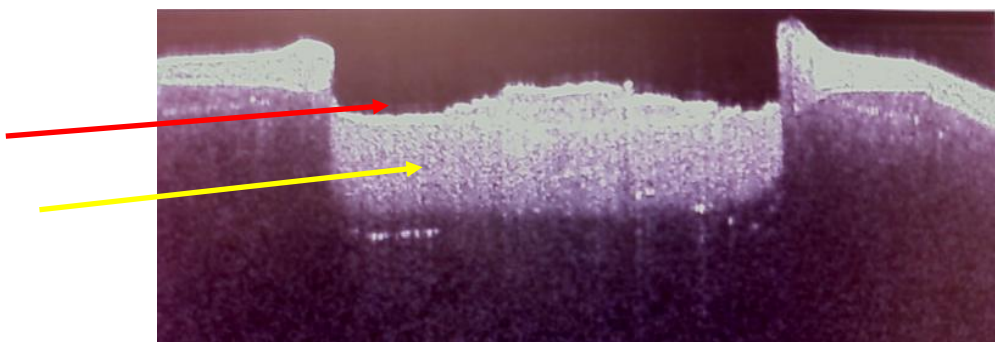


Figura 32: Imagem do corte transversal obtido por OCT, onde é possível ver a superfície irregular após a ciclagem ácida (seta vermelha), e a faixa mais clara associada à desmineralização (seta amarela).

## 5 RESULTADOS

Foram geradas 120 imagens a cada leitura, totalizando 720 imagens do dia 0 (OCT1) ao dia 20 (OCT6), em escala de 500  $\mu\text{m}$  com o uso do software desenvolvido no IPEN pelo Prof. Anderson Zanardi de Freitas.

As imagens obtidas por OCT foram avaliadas segundo uma superfície de referência obtida no dia 0 do experimento, previamente ao desafio ácido e às diferentes modalidades de tratamento empregadas e também comparadas com ela mesmas, utilizando a superfície de dentina recoberta com esmalte como superfície de referência (seu próprio controle). Com as imagens assim obtidas foram mensuradas as perdas por erosão dos 8 grupos de estudo.

Na leitura de OCT, a camada de verniz ácido-resistente aplicada sobre a superfície da dentina apresenta-se duplicada por espelhamento. O centro desta camada duplicada é correspondente à superfície original de dentina antes de sofrer erosão em decorrência do ácido. Para determinar esta posição, foi colocada no software *ImageJ* uma linha horizontal (Fig. 33).

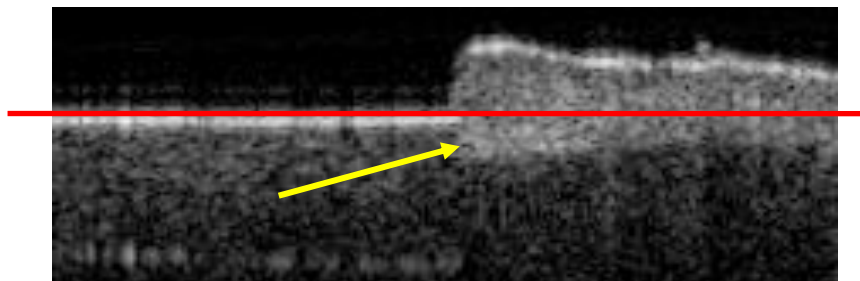


Figura 33: Espelhamento da camada de verniz ácido-resistente (seta amarela), e o posicionamento da linha vermelha no local correspondente à superfície íntegra (antes de sofrer perda de tecido em função das lesões de erosão).

O posicionamento manual das amostras sobre a lâmina de microscópio nos diferentes dias permitiu uma pequena variação na posição de leitura das mesmas no sentido ântero-posterior, causando uma pequena discrepância na extensão da área a ser medida, pelo fato da área protegida não formar um círculo perfeito. Os círculos adesivos, que protegem a área que sofreu a ciclagem ácida, foram confeccionados manualmente com o auxílio de um alicate perfurador de Ainsworth, resultando em círculos com diâmetros diferentes. Apesar da diferença entre os círculos ser da ordem de micrometros,

não seria possível comparar a variação de perda de tecido ao longo do tempo se toda a extensão da imagem fosse considerada.

As 720 imagens foram então trabalhadas nos softwares ImageJ - Image Processing and Analysis in Java, Version 1.44, 31 January 2011 (Rasband, WS, ImageJ, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA; e GIMP 2.6.11 – (GNU Image Manipulation Program (Copyright (C) 1995-2008 Spencer Kimball, Peter Mattis), buscando padronizar uma área de leitura em todas as amostras. Partindo do princípio de que a lesão de erosão ocorre em toda a extensão da área não protegida<sup>137</sup>, foi selecionada uma área central a partir da imagem com menor diâmetro da série de uma mesma amostra (medida através do software ImageJ, não necessariamente a primeira imagem da série), e selecionando-se a mesma área nas demais. Os limites laterais das medições passaram a ser as extremidades laterais dessa área selecionada, e o limite inferior a superfície exposta da amostra contida dentro da área demarcada (Fig. 34 a – 34d). Desta forma obteve-se uma área padronizada da perda de tecido, possibilitando uma comparação entre os 8 grupos analisados.



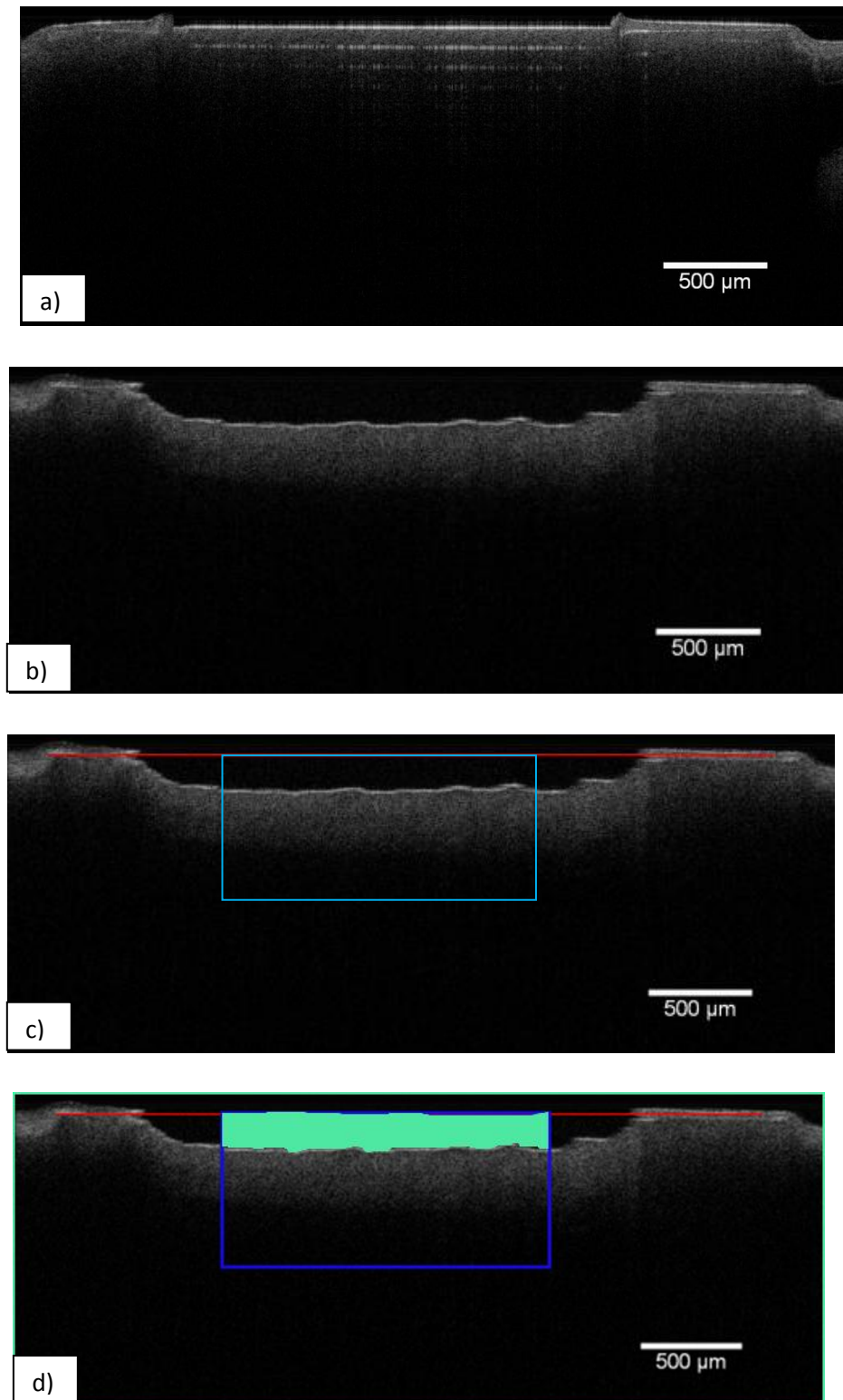


Figura 34: a) Amostra íntegra b) Lesão de erosão formada c) Posição da linha vermelha correspondente à superfície íntegra e demarcação da área central para medição da perda de tecido dentinário nas amostras d) área calculada em pixels pelo Programa ImageJ em verde)

Após a seleção, foi feita a medição das áreas com o uso do software ImageJ, contornando-se os limites das imagens selecionadas manualmente sobre uma tela de notebook sensível ao toque, com auxílio de uma caneta apropriada. A função *Measure* do programa ImageJ calculou a quantidade de pixels contidas no interior da área demarcada em cada uma das amostras (área em verde na Fig. 34). Os dados foram salvos em planilhas no software Microsoft Office Excel 2007 para a obtenção de gráficos para análise estatística.

Para determinar a confiabilidade da seleção manual da área a ser calculada pelo programa, foi escolhida uma imagem que apresentasse uma superfície erodida com muitas irregularidades. Foram feitas 50 medições seguidas da mesma área, observando-se assim o erro do operador, conforme o Gráf. 3. A variação entre as medições foi da ordem de 5 %.

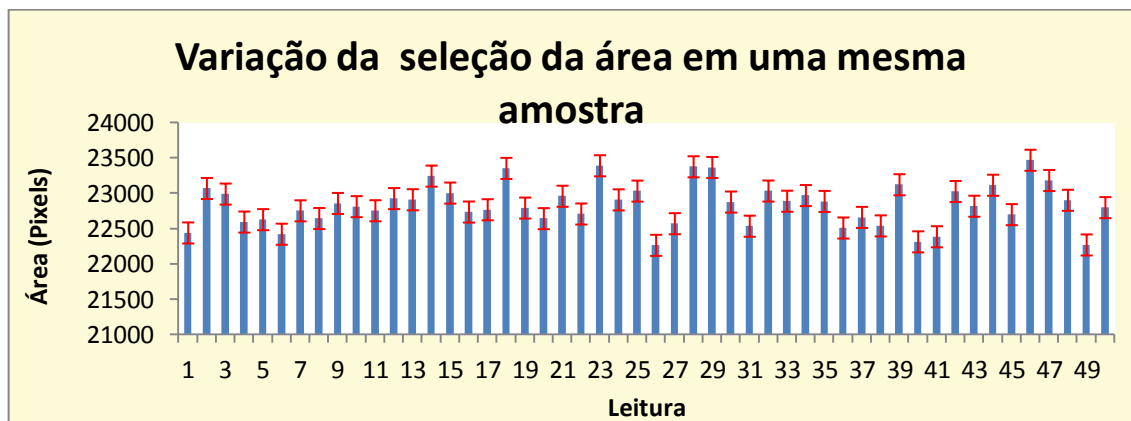


Gráfico 3: Valores obtidos após medições sucessivas da área selecionada em uma mesma amostra para determinar o erro do operador durante o contorno manual das áreas sobre a tela do computador sensível a toque, com uso de uma caneta apropriada.

### 5.1 Perda dentinária nos grupos

As áreas demarcadas e calculadas pelo software ImageJ conforme a Fig. 33 geram automaticamente planilhas do software Microsoft<sup>®</sup> Office Excel<sup>®</sup>2007, e a partir delas gráficos para melhor visualização das variações. Foram criados gráficos das perdas dentinárias (área demarcada de acordo com a Fig.34) para cada amostra ao final dos 20 dias; da variação da média aritmética de todas as 15 amostras de cada grupo em função do tempo; e do crescimento da área do grupo normalizado pela média, mostrados a seguir.

### 5.1.1 Grupo CONTROLE

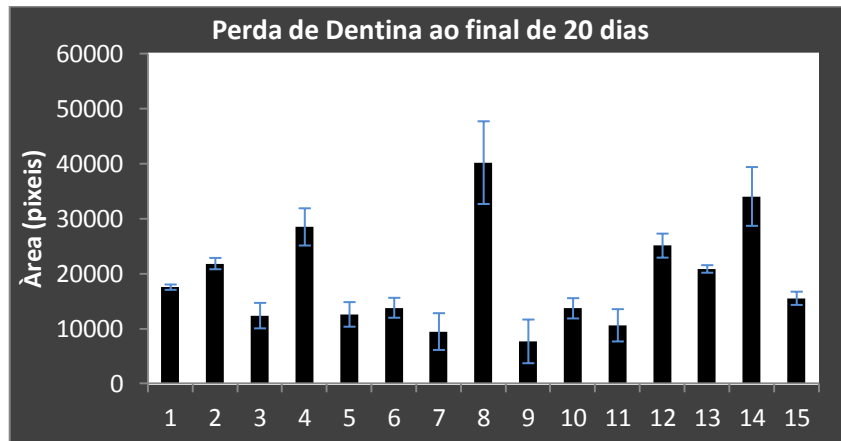


Gráfico 4: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda do grupo ao final do experimento.

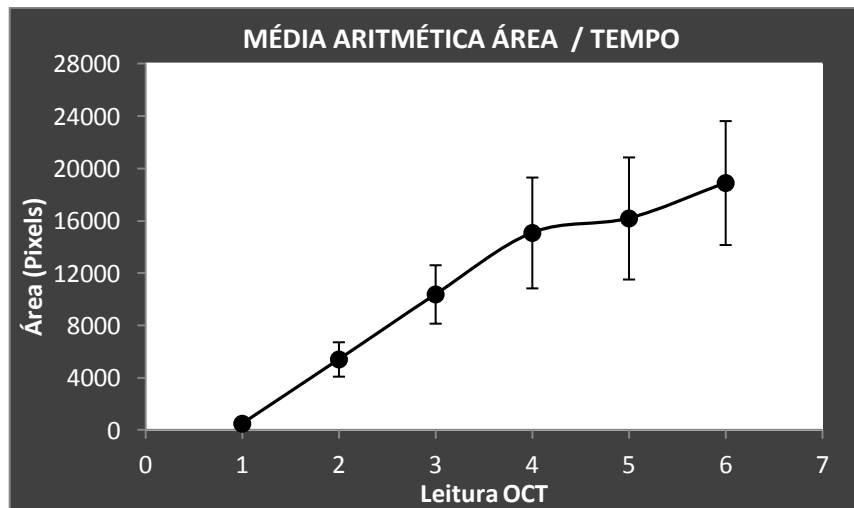


Gráfico 5: Média do aumento da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

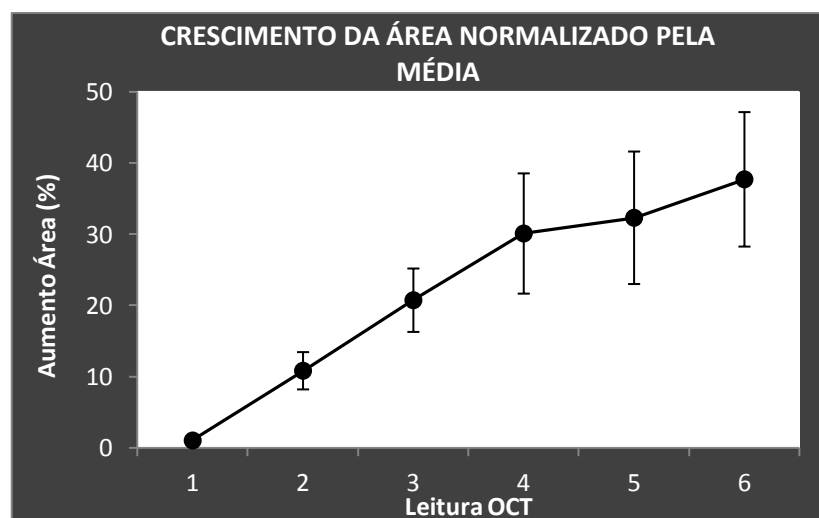


Gráfico 6: Taxa de aumento da área em função do tempo

### 5.1.2 Grupo FLÚOR

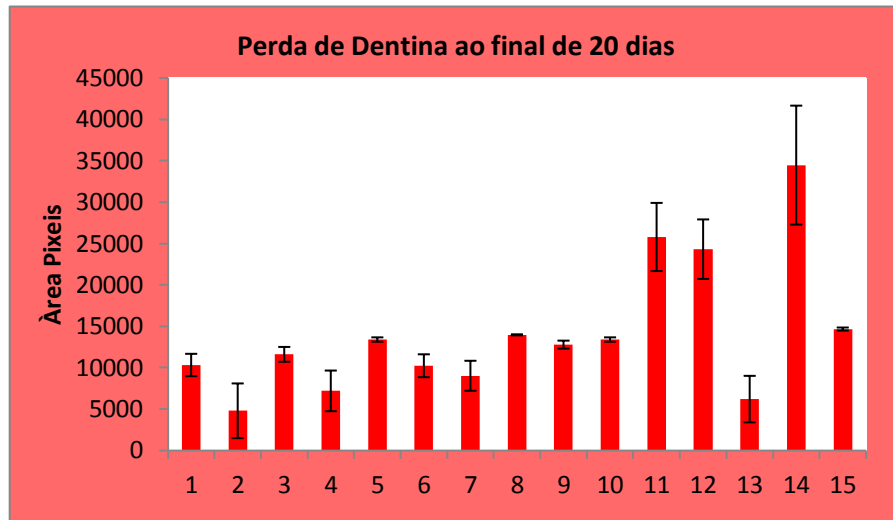


Gráfico 7: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

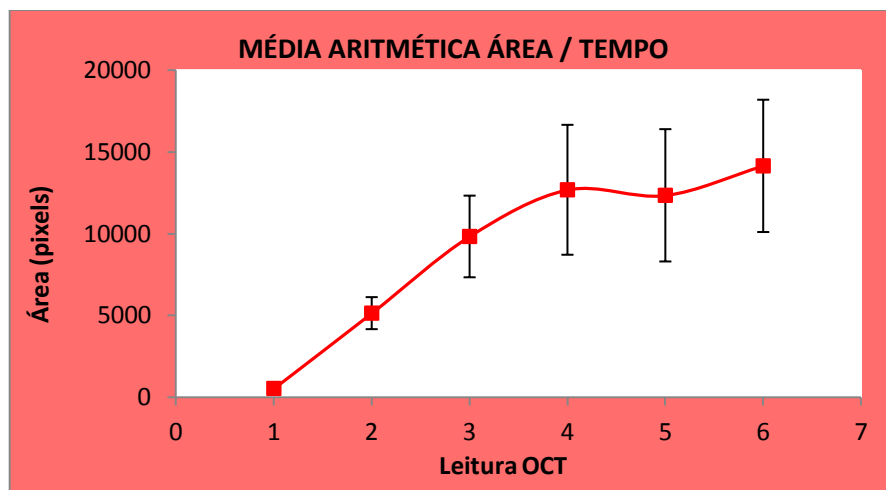


Gráfico 8: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

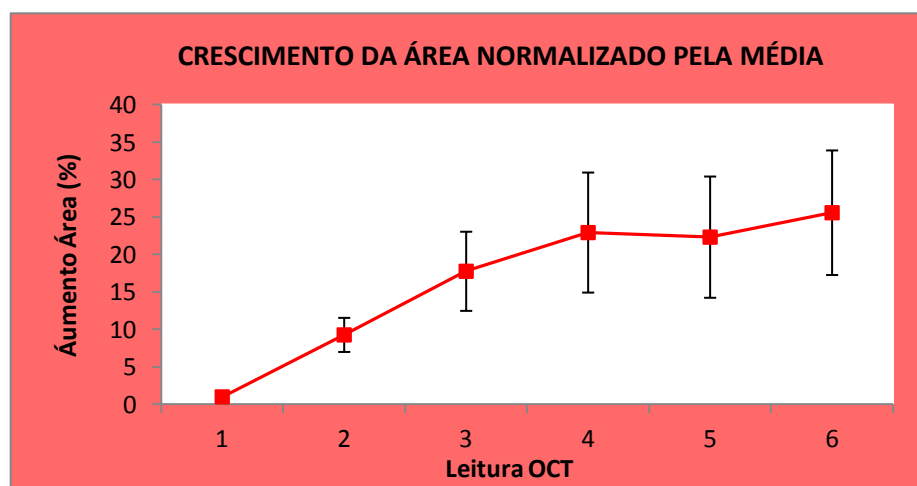


Gráfico 9: Taxa de aumento da área em função do tempo

### 5.1.3 Grupo FLÚOR + LASER1

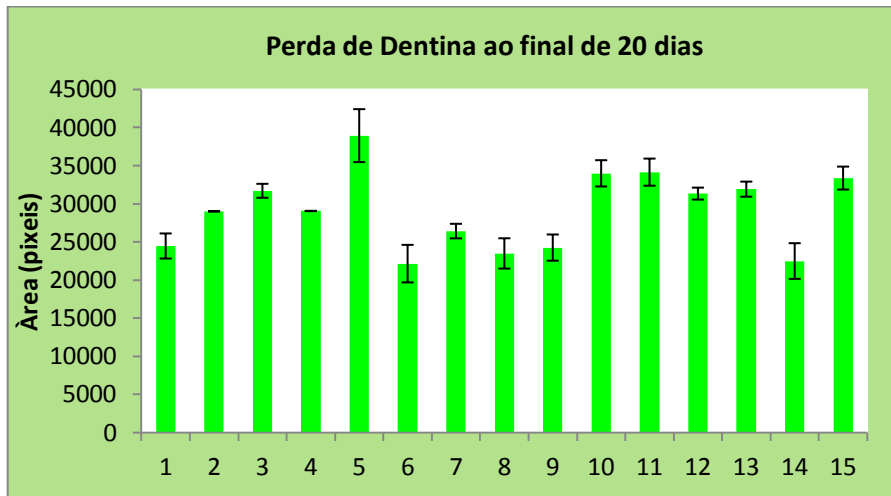


Gráfico 10: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

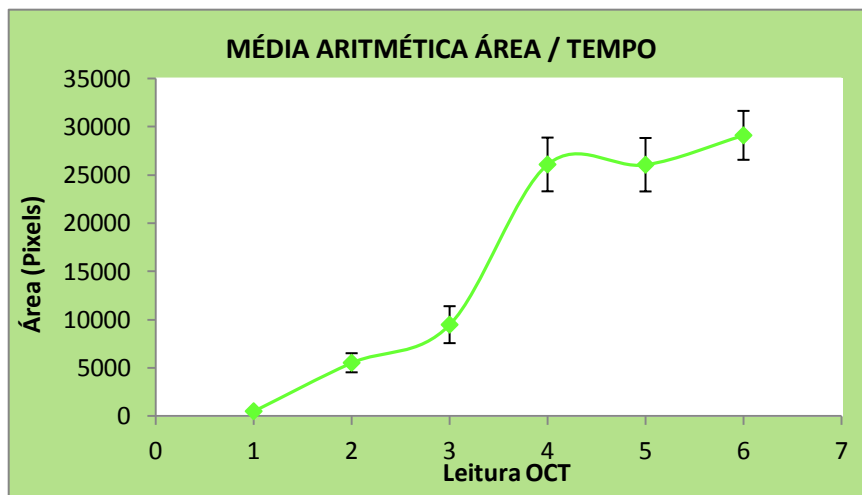


Gráfico 11: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

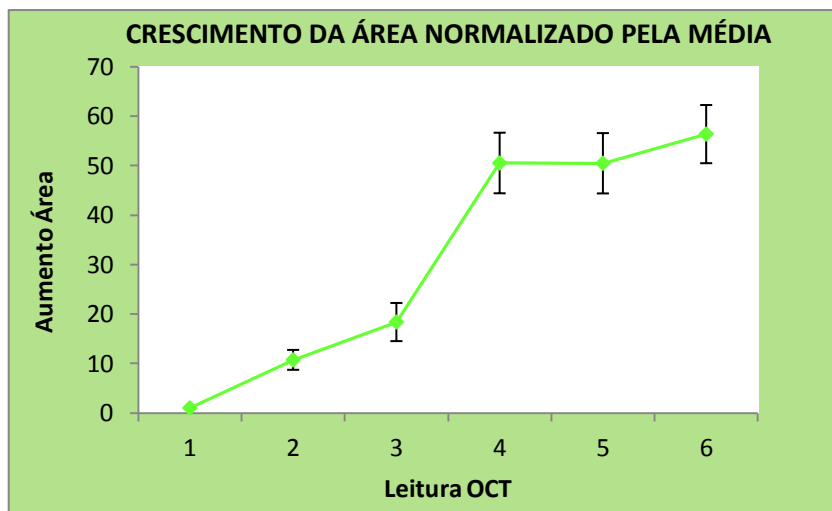


Gráfico 12: Taxa de aumento da área em função do tempo

### 5.1.4 Grupo FLÚOR + LASER2

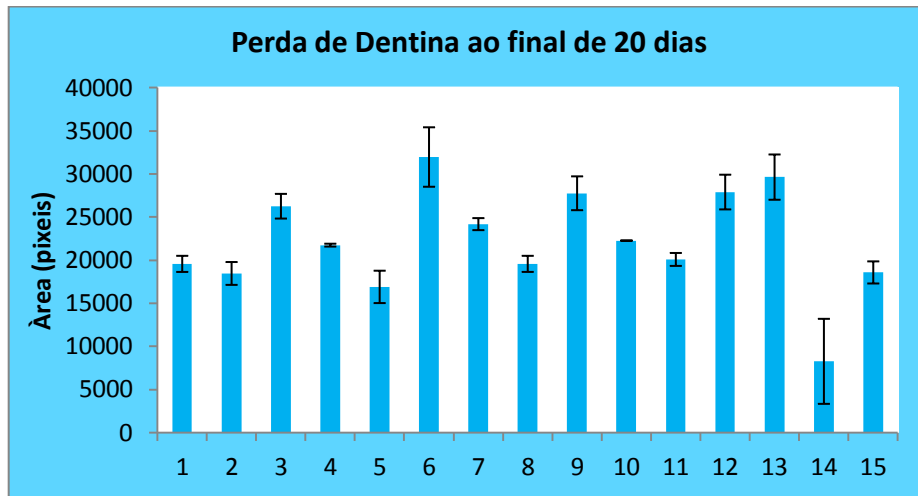


Gráfico 13: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

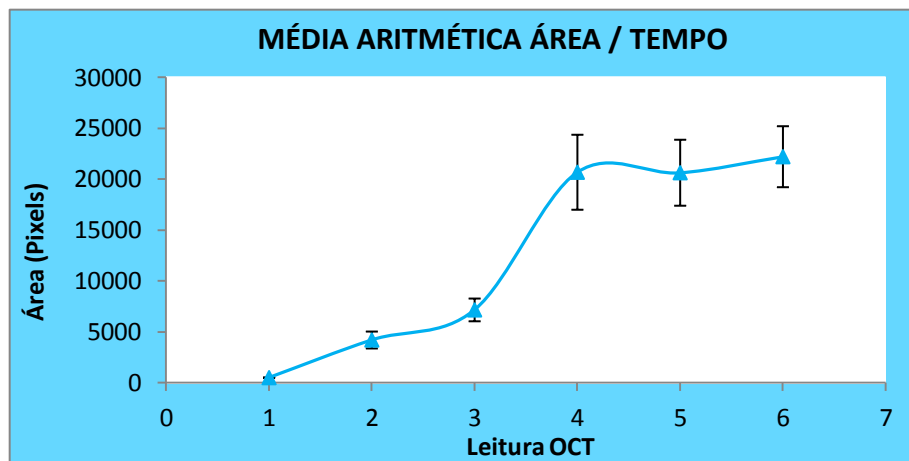


Gráfico 14: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

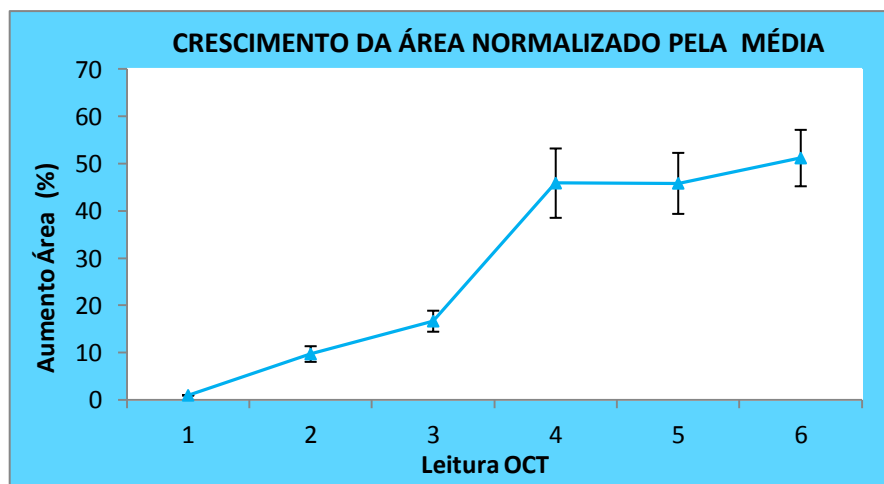


Gráfico 15: Taxa de aumento da área em função do tempo

### 5.1.5 Grupo FLÚOR + LASER3

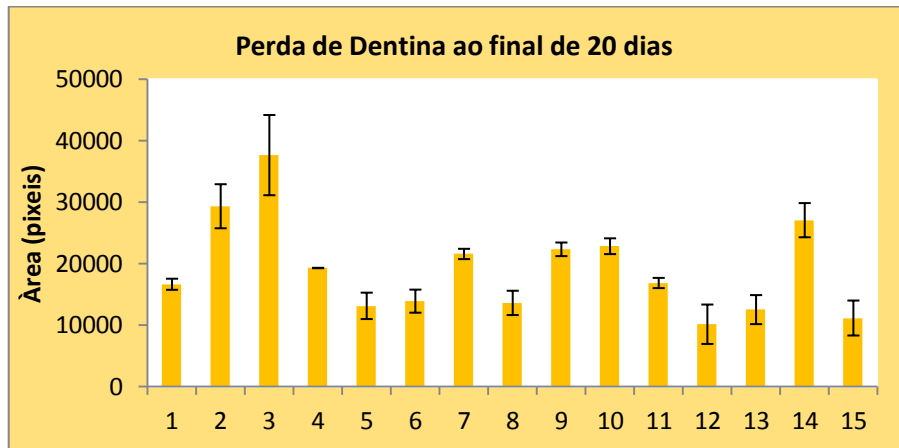


Gráfico 16: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

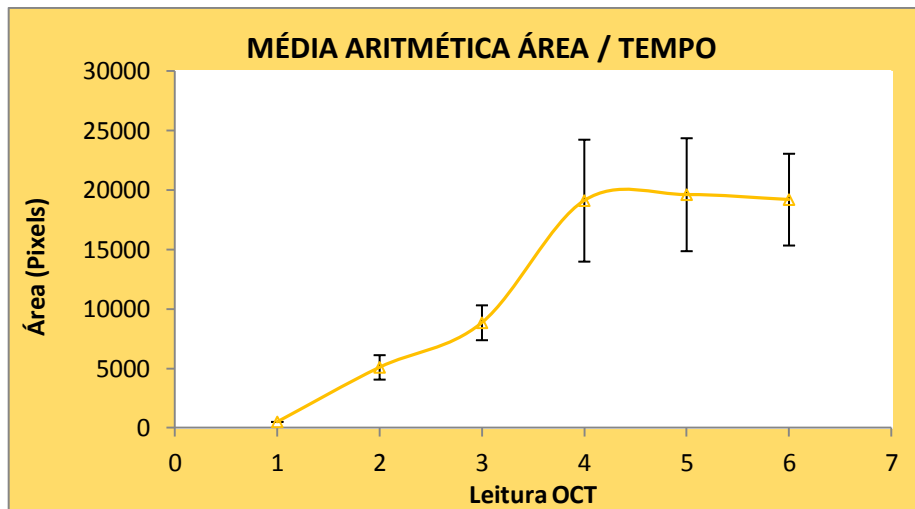


Gráfico 17: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

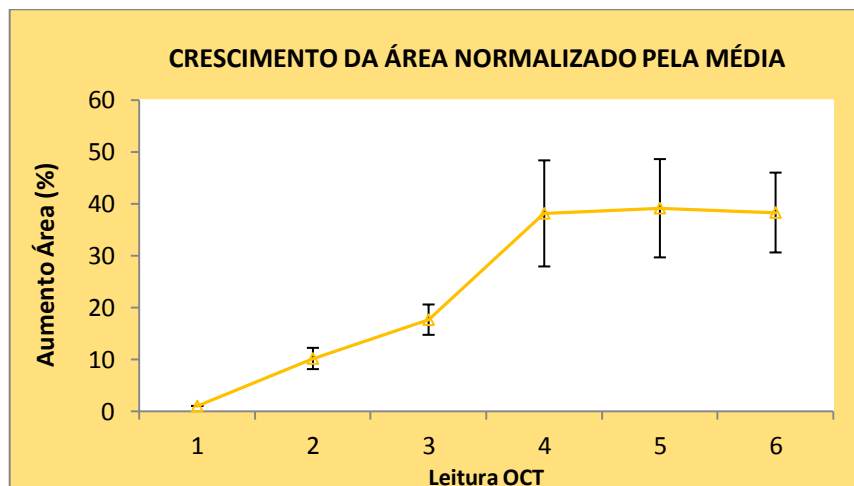


Gráfico 18: Taxa de aumento da área em função do tempo

5.1.6 Grupo LASER 1

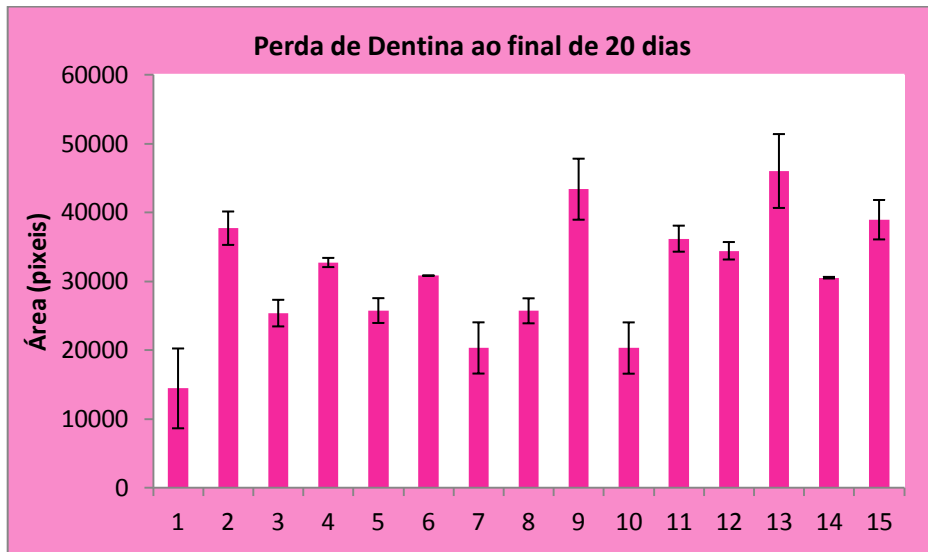


Gráfico 19: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

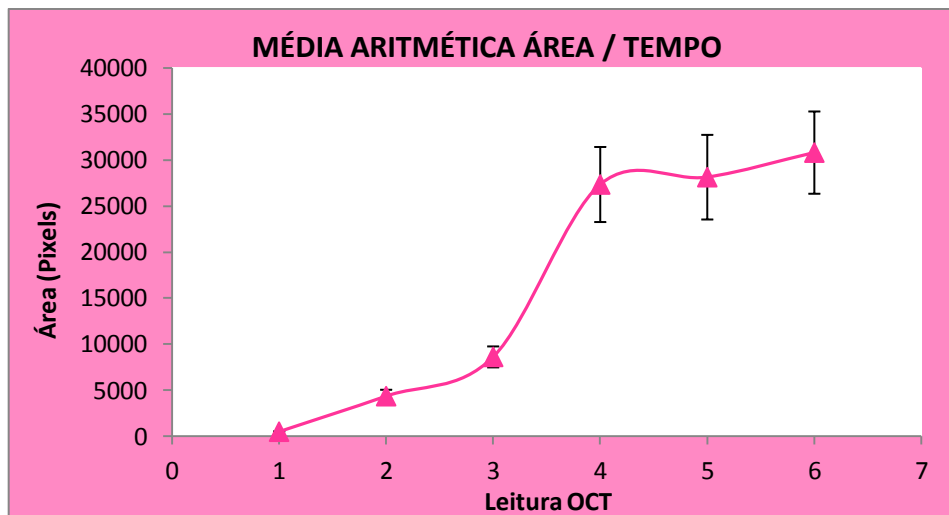


Gráfico 20: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

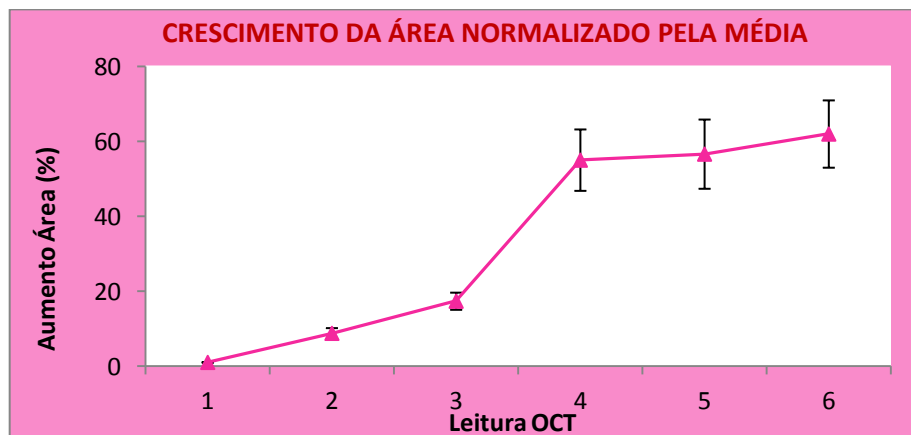


Gráfico 21: Taxa de aumento da área em função do tempo



5.1.7 Grupo LASER2

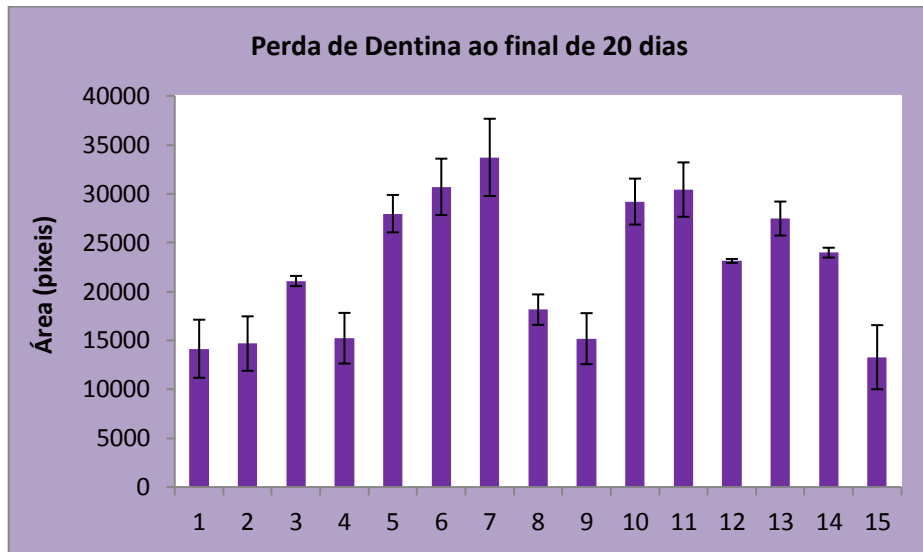


Gráfico 22: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

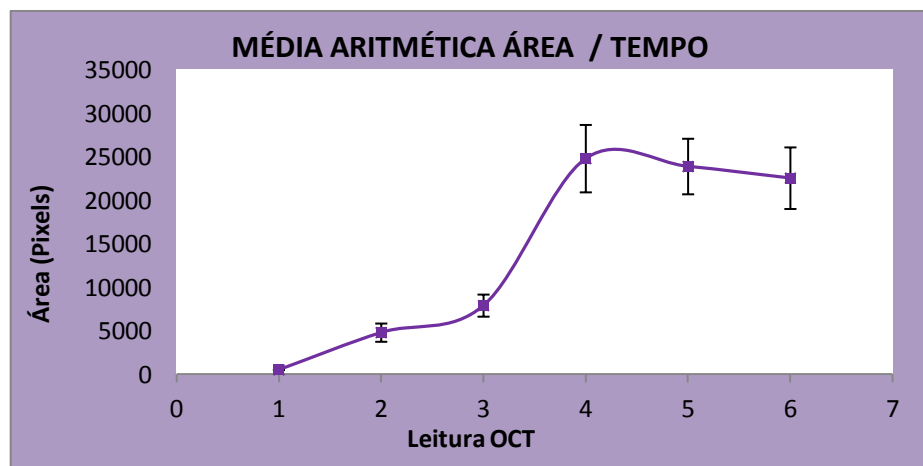


Gráfico 23: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

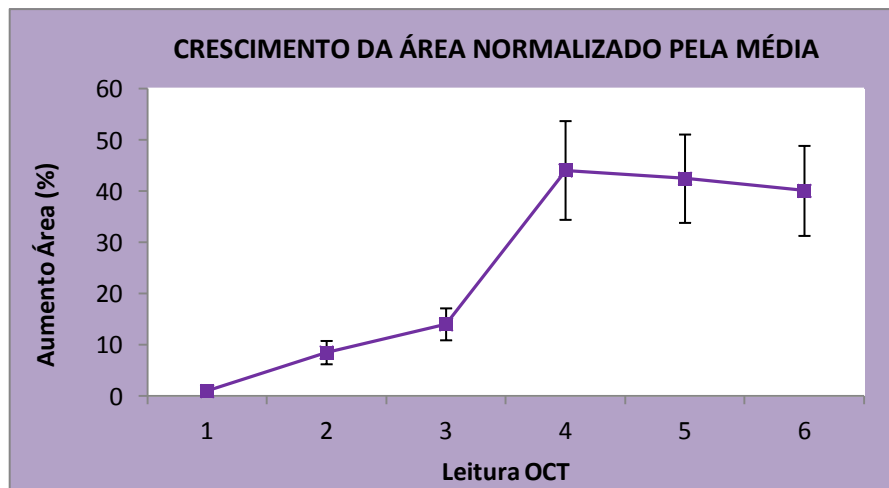


Gráfico 24: Taxa de aumento da área em função do tempo

5.1.8 Grupo LASER3

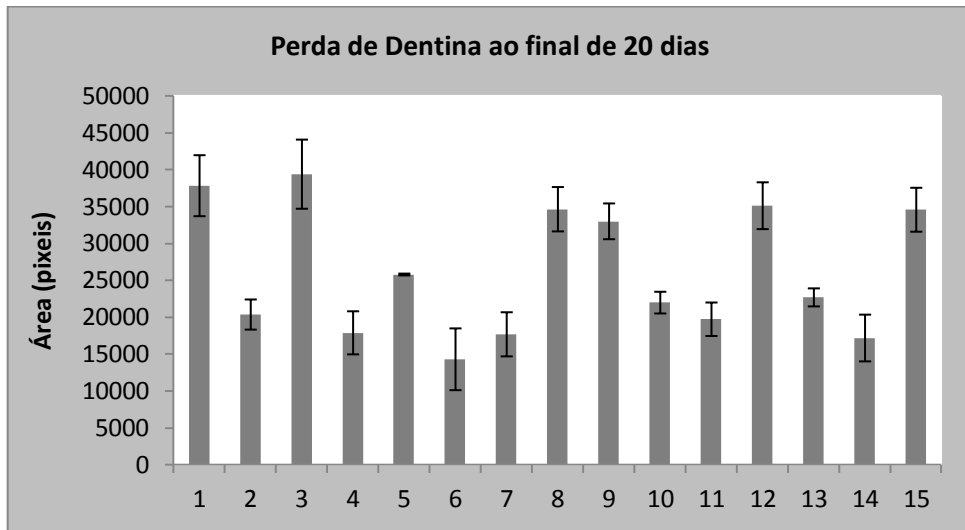


Gráfico 25: Perda de dentina em cada amostra ao final dos 20 dias de ciclagem ácida. O DP foi calculado em relação à média de perda de todo o grupo ao final do experimento

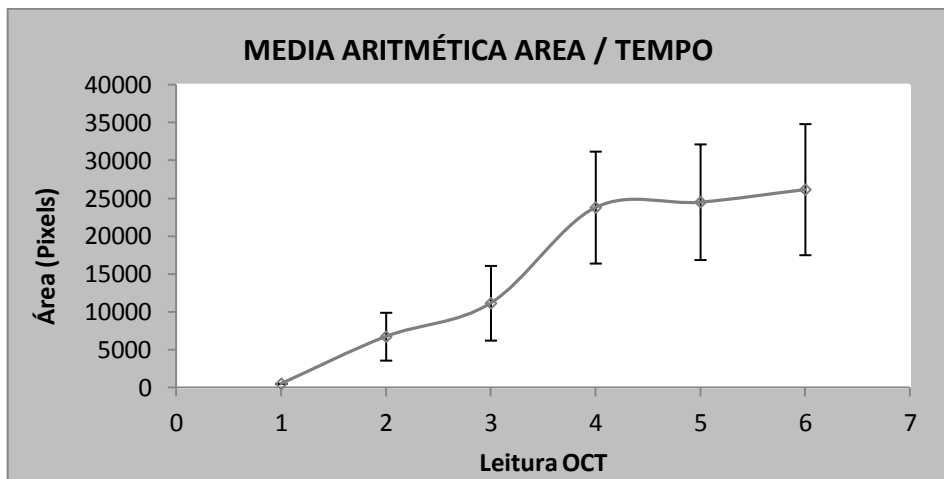


Gráfico 23: Variação da média da perda de dentina (de todas as 15 amostras) do grupo em função do tempo

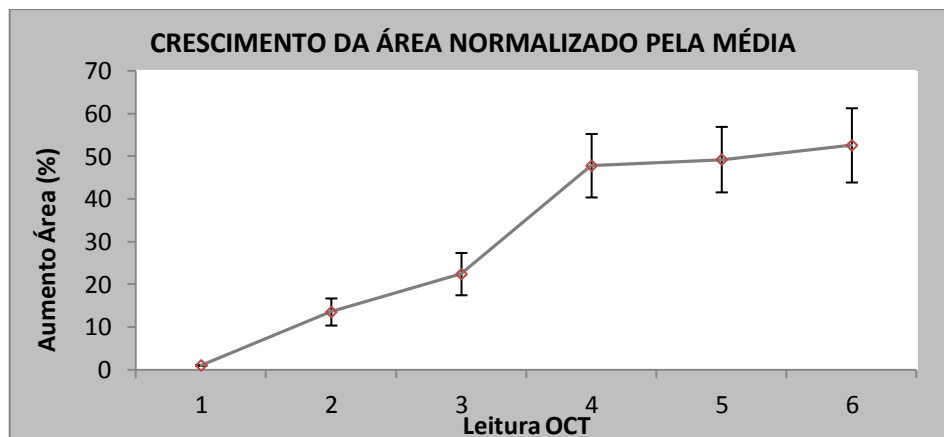


Gráfico 27: Taxa de aumento da área em função do tempo

## 5.2 Análise Estatística

Foi utilizado um modelo de Análise de Variância (ANOVA) com dois fatores para avaliar a progressão de lesão dentária, em função do tratamento realizado e do tempo de exposição. A distribuição normal das amostras foi determinada a partir dos resultados obtidos com a realização do teste Kolmogorov-Smirnov.

Foram avaliados 8 grupos de tratamento para o controle da área afetada (controle, flúor, flúor+laser1, flúor+laser2, flúor+laser3, laser1, laser2 e laser3), e as medidas foram obtidas nos seguintes intervalos de tempo: 0, 5, 10, 15, 17 e 20 dias.

O modelo de ANOVA contempla o efeito dos dois fatores estudados (tratamento e tempo), bem como a interação entre eles (tratamento\*tempo). O resultado da interação indica se a variação da área afetada ao longo do tempo depende dos grupos de tratamento, ou de forma análoga, se a variação da área entre os diversos tratamentos depende do tempo em que essa medida foi avaliada.

Para melhor visualização dos resultados, foi construído um gráfico de médias (gráfico 28) bem como uma tabela (Tab. 13) com as medidas descritivas (Nº de dentes avaliados, média, desvio padrão, valores mínimo, mediana e máximo) da área, por grupo e por tempo.

Para a análise dos dados, foi utilizado o *software* estatístico Minitab, versão 16.0. O nível de significância foi estabelecido para valores de  $p < 0,05$ .

### 5.2.1 Dados Obtidos

De acordo com o resultado da ANOVA apresentado no Quadro 1 abaixo, podemos observar que de fato existe um efeito de interação entre os fatores “tempo” e “tratamento”, estatisticamente significativa ( $F=4,20$ ;  $p < 0,001$ ).

<b>Two-way ANOVA: área versus tempo (dia); tratamento</b>						
<b>Fator</b>	<b>Tipo</b>	<b>Níveis</b>	<b>Valores</b>			
Tempo (dia)	fixo	6	0; 5; 10; 15; 17; 20			
tratamento	fixo	8	C; F; F + L1; F + L2; F = L3; L1; L2; L3			
<b>Análise de Variância da área, usando SS Ajustado para Testes</b>						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tempo (dia)	5	56023412478	56023412478	11204682496	328,99	0,000
Tratamento	7	4411938297	4411938297	630276900	18,51	0,000
Tempo(dia) *tratamento	35	5002960345	5002960345	142941724	4,20	0,000
Erro	672	22887081344	22887081344	34058157		
Total	719	88325392464				
S = 5835,94 R-Sq = 74,09% R-Sq(adj) = 72,28%						

Quadro 1: Resultado do modelo de ANOVA para testar o efeito do tempo e tratamento na medida da área da lesão dentária

Essa interação indica que o aumento da área da lesão medida ao longo do tempo não é a mesma para todos os grupos de tratamento. De forma análoga pode-se afirmar também que a diferença da área medida entre os grupos de tratamento, pode variar conforme o tempo. O efeito de interação pode ser observado no Gráf. 28 como a falta de “paralelismo” entre as retas que indicam a área da lesão ao longo do tempo, por grupo de tratamento.

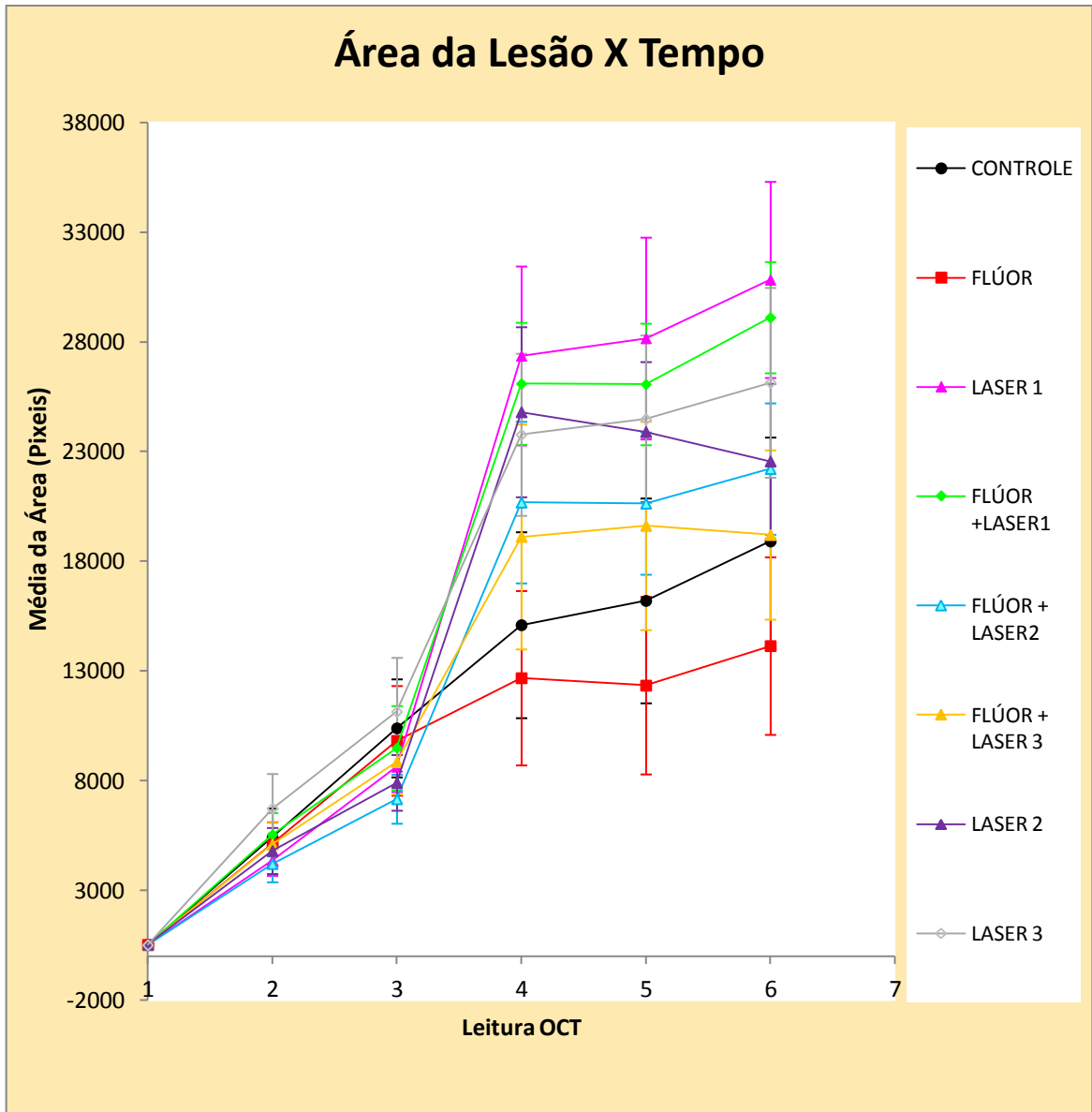


Gráfico 28: Variação da média da área das lesões, por grupo de tratamento e tempo de exposição

Uma vez que existe o efeito de interação, a comparação da área entre os grupos de tratamento deve ser feita separadamente para cada tempo. O método de comparações múltiplas de Tukey foi utilizado para verificar, em cada tempo, quais grupos apresentavam diferenças significantes entre si (Quadro 2).

Comparação entre Grupos usando Método de Tukey, Intervalo de Confiança 95,0%				
tempo (dia)	tratamento	N	Média	Agrupamento
20	laser1	15	30832,1	A
20	flúor+laser1	15	29110,1	A B
20	laser3	15	26141,1	A B C D
20	laser2	15	22554,3	A B C D E F
20	flúor+laser2	15	22208,6	B C D E F
20	flúor+laser3	15	19201,1	D E F G H
20	controle	15	18907,1	D E F G H
20	flúor	15	14137,5	F G H I J
17	laser1	15	28161,1	A B C
17	flúor+laser1	15	26066,1	A B C D
17	laser3	15	24481,2	A B C D E
17	laser2	15	23893,9	A B C D E
17	flúor+laser2	15	20634,3	C D E F G
17	flúor+laser3	15	19615,6	D E F G
17	controle	15	16198,3	E F G H I
17	flúor	15	12335,9	G H I J K L
15	laser1	15	27366,1	A B C D
15	flúor+laser1	15	26093,0	A B C D
15	laser2	15	24800,1	A B C D
15	laser3	15	23771,0	A B C D E
15	flúor+laser2	15	20681,4	B C D E F G
15	flúor+laser3	15	19115,1	D E F G H
15	controle	15	15090,4	F G H I J
15	flúor	15	12673,7	G H I J K
10	laser3	15	11139,1	H I J K L
10	controle	15	10387,9	I J K L
10	flúor	15	9817,9	I J K L
10	flúor+laser1	15	9486,5	I J K L
10	flúor+laser3	15	8843,3	I J K L M
10	laser1	15	8626,3	I J K L M
10	laser2	15	7901,6	I J K L M
10	flúor+laser2	15	7156,2	J K L M
5	laser3	15	6726,4	J K L M
5	flúor+laser1	15	5536,2	K L M
5	controle	15	5416,9	K L M
5	flúor	15	5125,3	K L M
5	flúor+laser3	15	5090,3	K L M
5	laser2	15	4795,7	K L M
5	laser1	15	4359,3	K L M
5	flúor+laser2	15	4200,5	L M
0	flúor+laser1	15	568,4	M
0	laser2	15	562,4	M
0	flúor	15	552,5	M
0	flúor+laser2	15	501,9	M
0	flúor+laser3	15	501,3	M
0	controle	15	501,2	M
0	laser1	15	497,6	M
0	laser3	15	497,1	M

Grupos que não compartilham uma letra são significativamente diferentes

Quadro 2: Comparações múltiplas de Tukey, para identificar diferenças significantes entre os grupos, por tempo. Letras diferentes representam diferença significativa entre os valores.

A Tab. 13 mostra os resultados gerais (N° de amostras, média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e máximo) da área da lesão, em cada tempo, para cada um dos grupos de tratamento.

Tabela 13: medidas resumo da área (pixel), de acordo com o tempo (dia) e o tratamento.

Tempo(dia)	tratamento	N	média	d.p.	mínimo	mediana	máximo
0	controle	15	501	1,6	498	501	504
0	flúor	15	552	169,9	497	501	639
0	flúor+laser1	15	569	260,2	498	501	731
0	flúor+laser2	15	502	1,9	496	502	504
0	flúor+laser3	15	501	1,8	498	501	504
0	laser1	15	498	1,7	494	498	500
0	laser2	15	562	172,0	494	497	699
0	laser3	15	497	1,2	495	497	499
5	controle	15	5417	2629	1000	5689	9253
5	flúor	15	5125	1959	2330	5381	8263
5	flúor+laser1	15	5536	1979	2755	5533	8449
5	flúor+laser2	15	4201	1663	1002	3974	7250
5	flúor+laser3	15	5090	2055	503	5085	7700
5	laser1	15	4359	1389	1752	4382	6390
5	laser2	15	4796	2099	992	4842	7967
5	laser3	15	6726	3158	1988	6326	14461
10	controle	15	10388	4469	3536	9978	18435
10	flúor	15	9818	4996	4553	8650	22321
10	flúor+laser1	15	9486	3830	4452	8936	17429
10	flúor+laser2	15	7156	2233	3771	7004	11925
10	flúor+laser3	15	8843	2934	5528	8028	16315
10	laser1	15	8626	2277	5964	8105	11889
10	laser2	15	7902	2539	1494	8110	10935
10	laser3	15	11139	4928	5147	9528	19120
15	controle	15	15090	8476	4890	11418	31423
15	flúor	15	12674	7950	5037	10147	33720
15	flúor+laser1	15	26093	5569	18320	25166	37205
15	flúor+laser2	15	20681	7367	10425	20423	34464
15	flúor+laser3	15	19115	10256	8211	16704	44372

15	laser1	15	27366	8157	14269	27265	42234
15	laser2	15	24800	7751	9844	26765	39184
15	laser3	15	23771	7390	13946	22444	37048
17	controle	15	16198	9338	5734	12833	36429
17	flúor	15	12336	8097	5594	9820	34078
17	flúor+laser1	15	26066	5541	18316	25400	38954
17	flúor+laser2	15	20634	6483	7293	20278	32448
17	flúor+laser3	15	19616	9502	8997	18307	45106
17	laser1	15	28161	9197	14174	30150	43096
17	laser2	15	23894	6383	14375	21496	34174
17	laser3	15	24481	7634	13118	24997	37947
20	controle	15	18907	9478	7671	15508	40175
20	flúor	15	14137	8095	4780	12778	34471
20	flúor+laser1	15	29110	5070	22143	29051	38933
20	flúor+laser2	15	22209	5992	8259	21742	31967
20	flúor+laser3	15	19201	7720	10135	16849	37662
20	laser1	15	30832	8942	14425	30808	46015
20	laser2	15	22554	7078	13283	23127	33721
20	laser3	15	26141	8652	14293	22685	39394

Observando o gráfico 28, nota-se de uma forma geral que a área aumenta progressivamente até o dia 15, permanecendo constante até o dia 20. Essa constatação pode ser comprovada também pelo método de comparações múltiplas de Tukey, conforme indicado no Quadro 3 abaixo:

<b>Comparação entre Grupos usando Método de Tukey e Intervalo de Confiança de 95,0%</b>			
tempo (dia)	N	Média	Agrupamento
20	120	22886,5	A
17	120	21423,3	A
15	120	21198,8	A
10	120	9169,8	B
5	120	5156,3	C
0	120	522,8	D

Grupos que não compartilham uma letra são significativamente diferentes

Quadro 3: Comparações múltiplas de Tukey, para identificar diferenças significantes ao longo do tempo. Letras diferentes representam diferença significativa entre os grupos.



Pôde-se observar no gráfico 28 os diferentes efeitos dos tratamentos realizados para, inicialmente, impedir a progressão das lesões de erosão que foram realizadas *in vitro* nas amostras de dentina. Observa-se que o grupo controle apresentou característica de aumento da área ao longo do tempo, como já era esperado, devido à sequência de ciclagem química, sem que nenhuma modalidade de tratamento tenha sido efetuada.

No mesmo Gráfico 28, ainda podemos observar que, quando da associação do laser com o flúor, os resultados foram superiores ao uso do laser utilizado isoladamente, com exceção do grupo F + L1 (1 W). O grupo Flúor foi o que demonstrou a maior capacidade de impedir a progressão das lesões de erosão ( $P < 0,05$ ) nos tempos 15 e 17.

É interessante notar que não houve diferença estatística entre todos os grupos até o momento do tratamento. Através do teste de Tukey, identificamos diferenças significantes após os tratamentos entre os grupos e, até o dia 10, todos foram semelhantes estatisticamente entre si ( $p > 0,05$ ) (Quadro 2).

Com relação aos grupos laser, observa-se no gráfico 28 que somente os protocolos Laser 2 (0,7 W) e F + Laser 3 (0,5 W) mostraram uma diminuição na progressão das lesões de erosão, porém, não estatisticamente significativa. Através do teste de Tukey (Quadro 2), observa-se que no dia 15, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos laser e os grupos laser associado ao flúor nos 3 protocolos utilizados, porém, nos dias 15, 17 e 20, o grupo Flúor + Laser 3 (protocolo de 0.5 W) mostrou-se com menor perda, quando comparado aos demais protocolos (0,7 W e 1 W).

Considerando-se o aumento das áreas do dia 15 em diante (após os tratamentos realizados), observamos que o aumento das áreas é mais equilibrado entre todos os grupos do que o aumento acontecido entre o dia 10 e o dia 15, quando os grupos irradiados (F+L1, F+L2, F+L3, L1, L2 e L3) apresentaram um maior aumento em relação aos grupos Controle e Flúor (Gráf. 29).

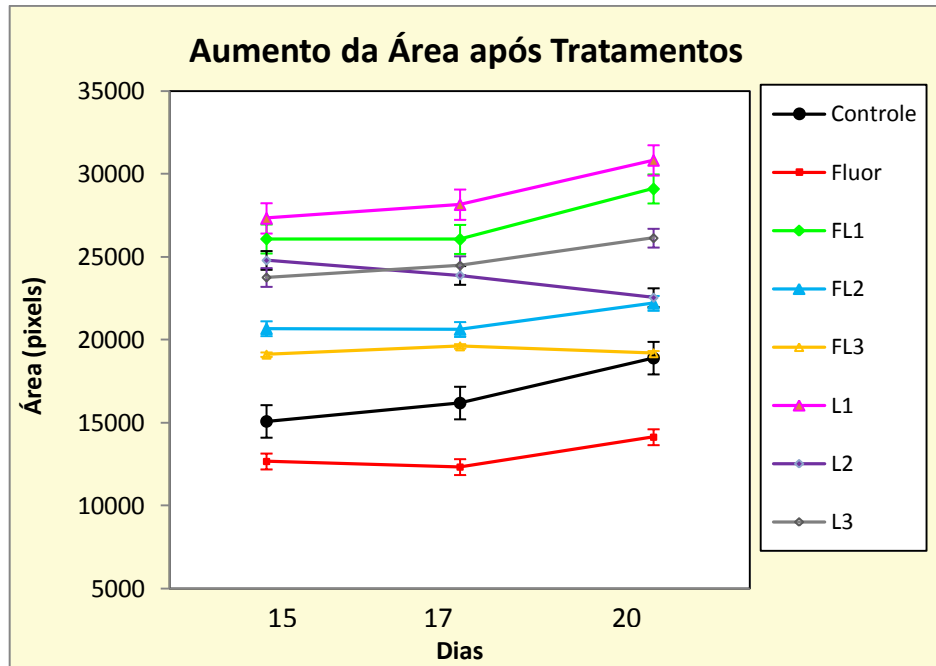


Gráfico 29: Aumento da perda de dentina nos diferentes grupos após os tratamentos.

É possível então, estimando um aumento percentual nos dias 15, 17 e 20, como demonstrado no Gráfico 30, verificar um melhor desempenho dos grupos L2 e F+L3, com os resultados indo de encontro aos obtidos pelo teste de Tukey.

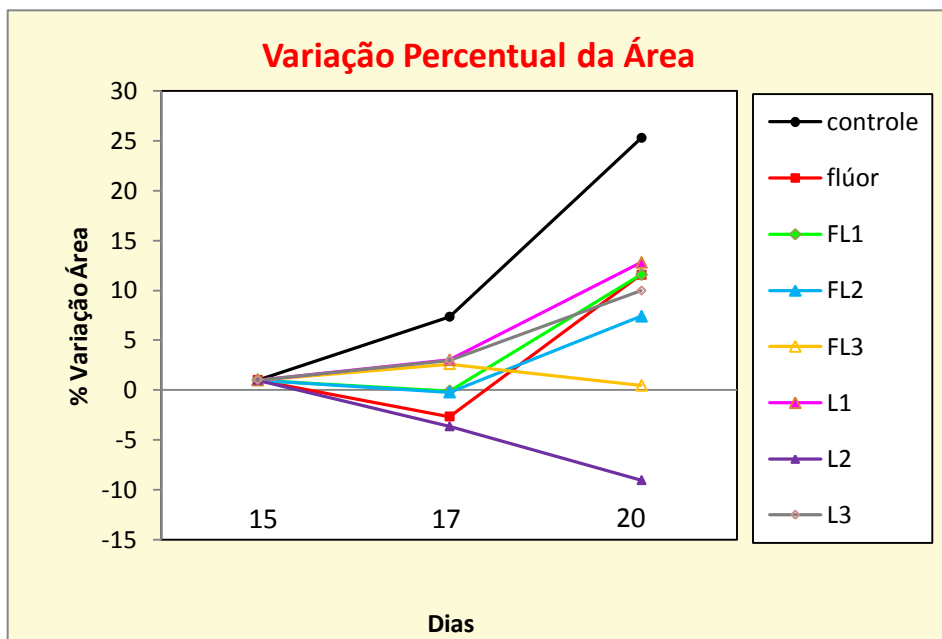


Gráfico 30: Variação Percentual da área nos dias 15, 17 e 20 (após tratamentos). Observe-se que os grupos L2 (0,7 W) e FL3 (Flúor + Laser 0,5 W) apresentaram uma diminuição na progressão da lesão de erosão.

### 5.3 Imagens OCT

Foram escolhidas imagens (Fig. 35 a 42) características para cada um dos grupos com o intuito de ilustrar a progressão das lesões de erosão.

É possível acompanhar tanto o aumento da perda de tecido, como o aumento da faixa branca (retroespalhamento da radiação), associada à desmineralização sofrida pela amostra.

As medições da faixa branca foram realizadas com o intuito ilustrativo, demonstrando a possibilidade de acompanhamento longitudinal ao longo do tempo (análise qualitativa), e não com a intenção de uma mensuração real dos valores (análise quantitativa). O Gráf. 31, entretanto, ilustra um comportamento da progressão das lesões compatível com os resultados encontrados nas medições de perda de tecido nas amostras.

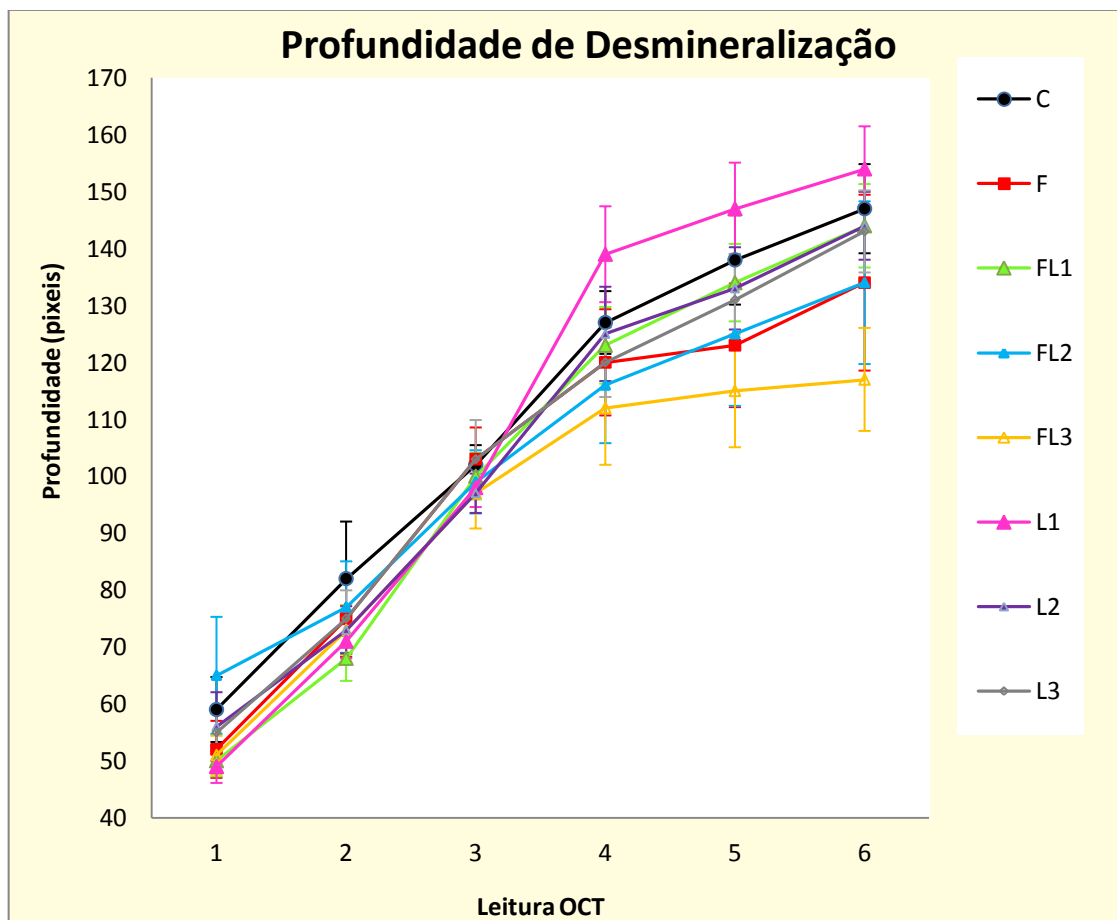


Gráfico 31: Aumento da espessura da faixa branca (sinal mais forte de OCT) relacionada ao aumento da desmineralização

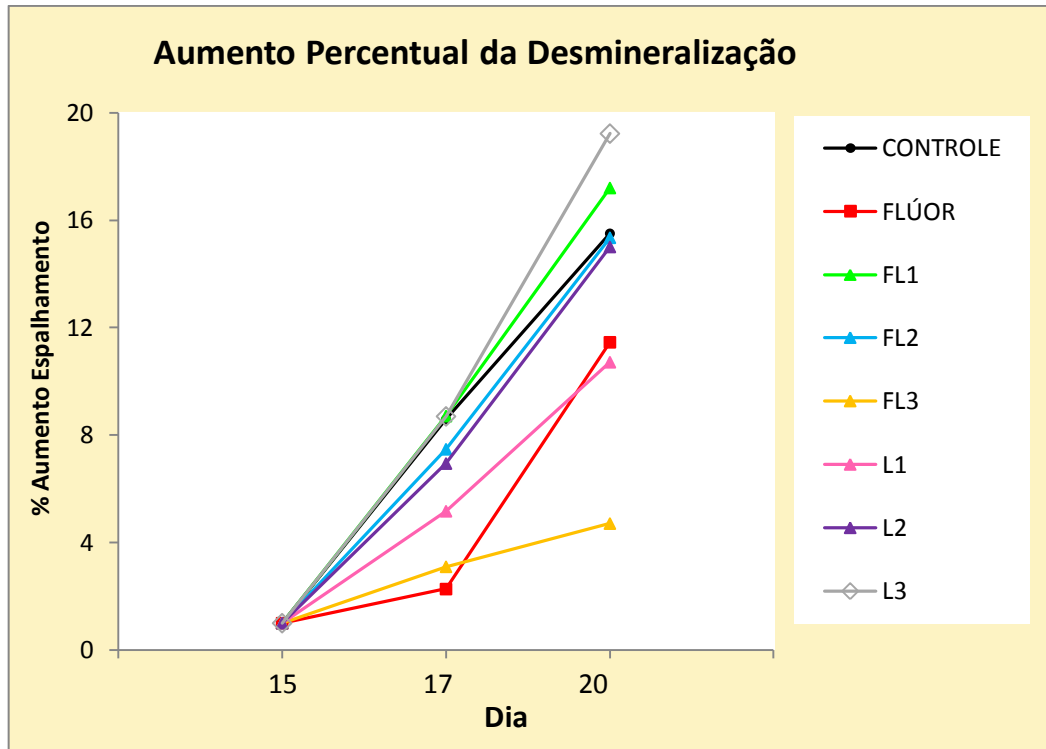


Gráfico 32: Variação percentual da profundidade da área desmineralizada nas amostras nos dias 15, 17 e 20 (pós tratamentos). A área desmineralizada aumentou em todas as amostras, e o menor aumento foi registrado no grupo FL3 (Flúor + Nd:YAG 0,5 W).

Figura 35: Grupo Controle – Amostra 2C

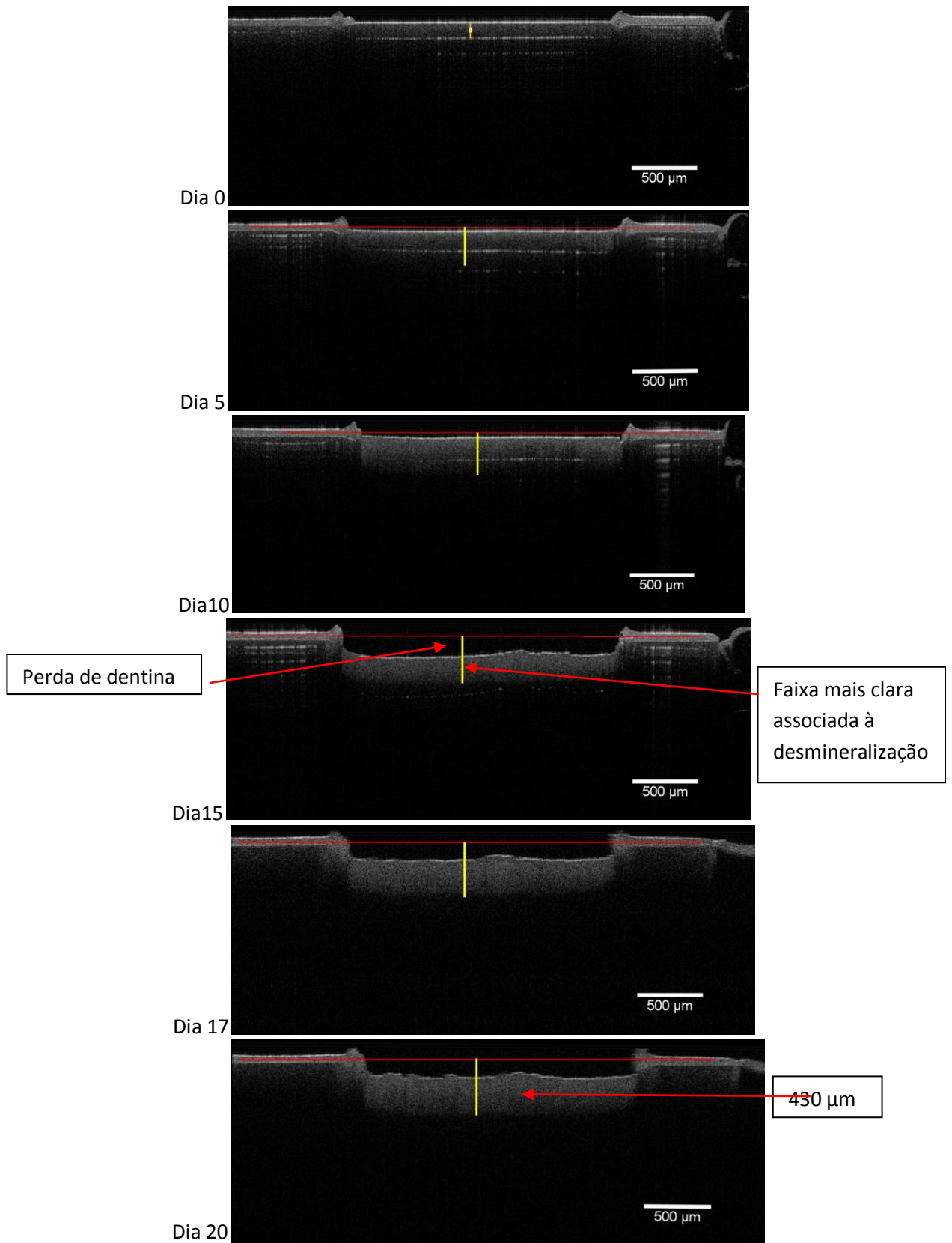




Figura 37: Grupo Flúor + Laser1 – 1 W– Amostra 9FL1

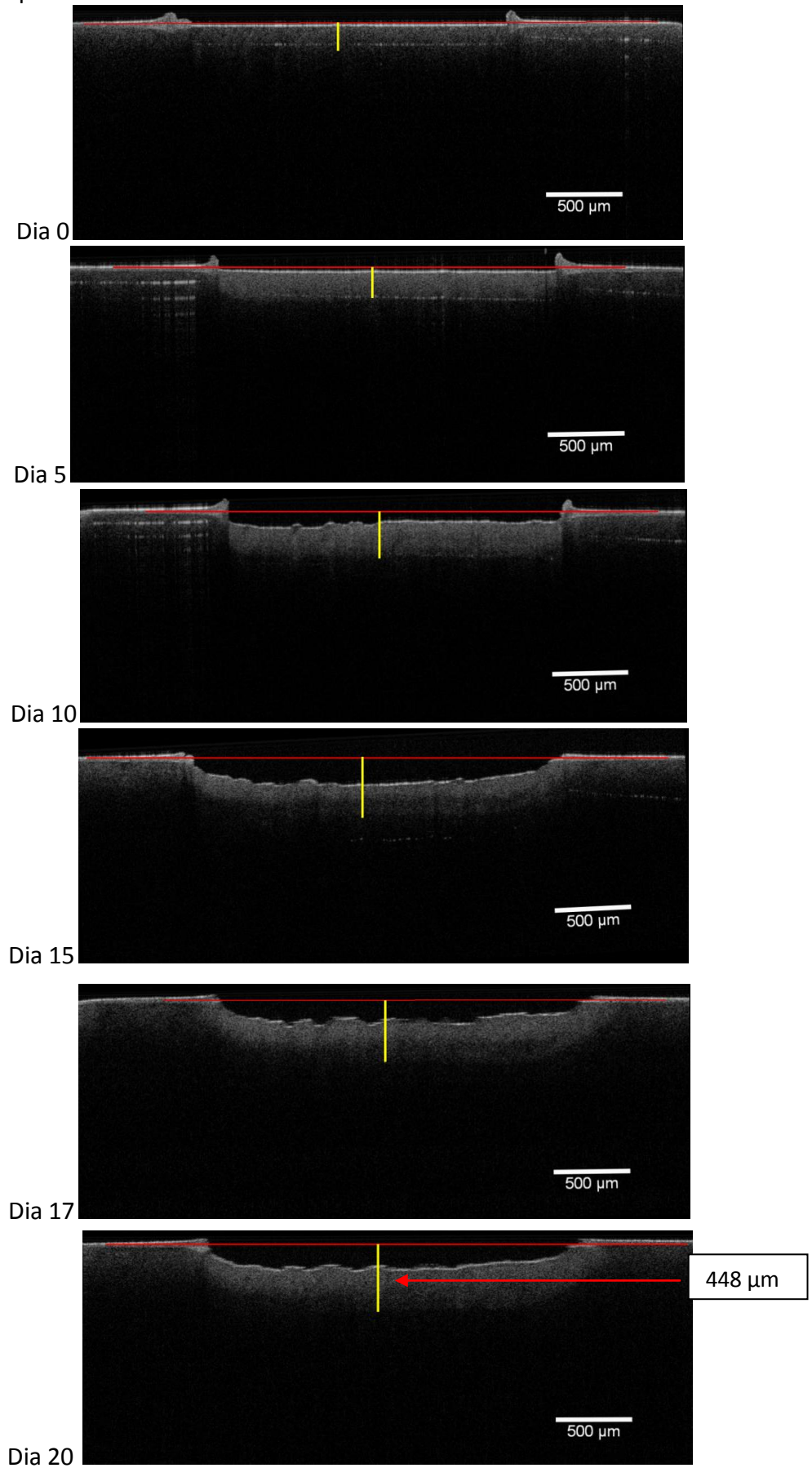


Figura 38: Grupo Flúor + Laser2 – 0,70 W – Amostra 11FL2

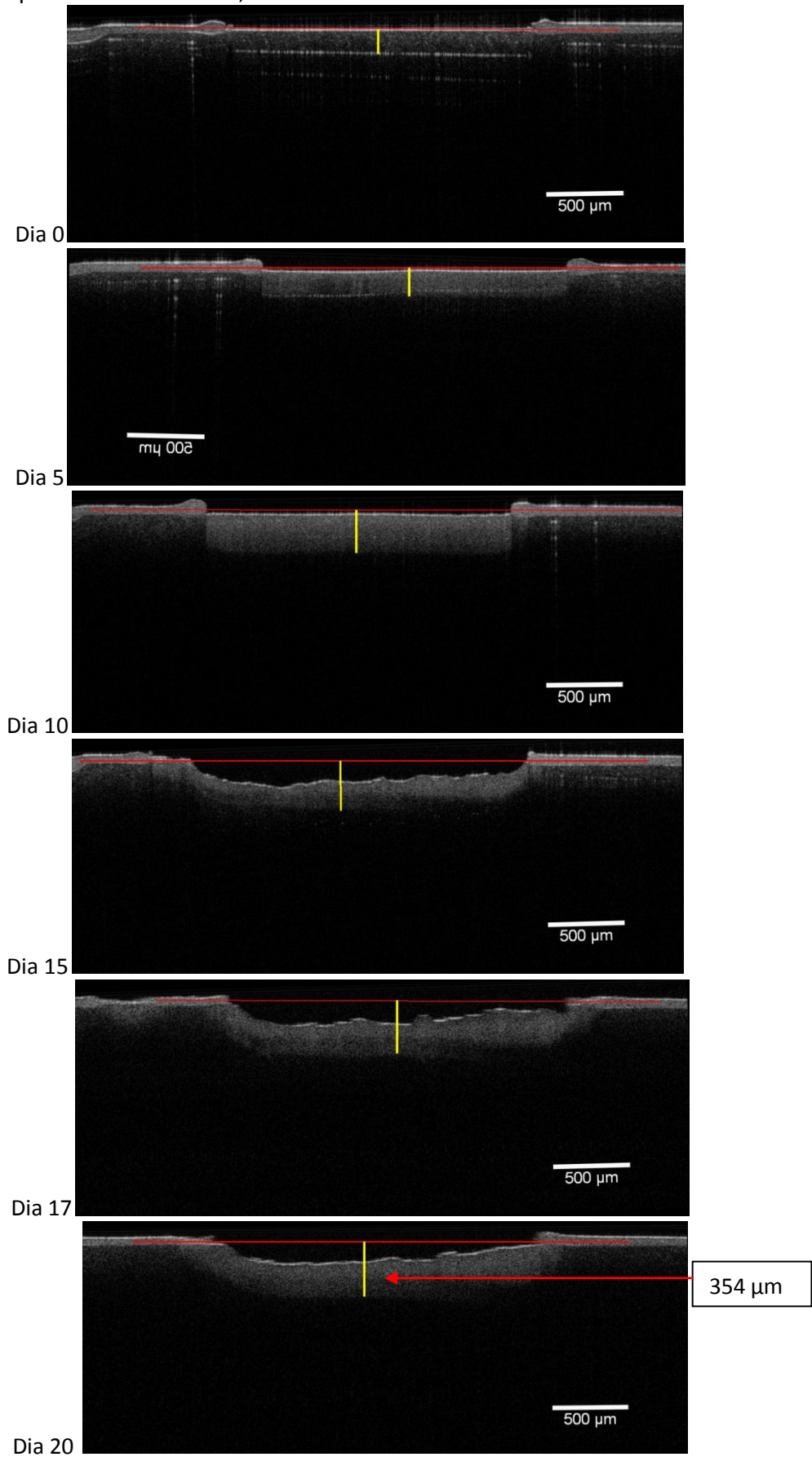




Figura 39: Grupo Flúor + Laser3 - 0,5 W- Amostra 4FL3

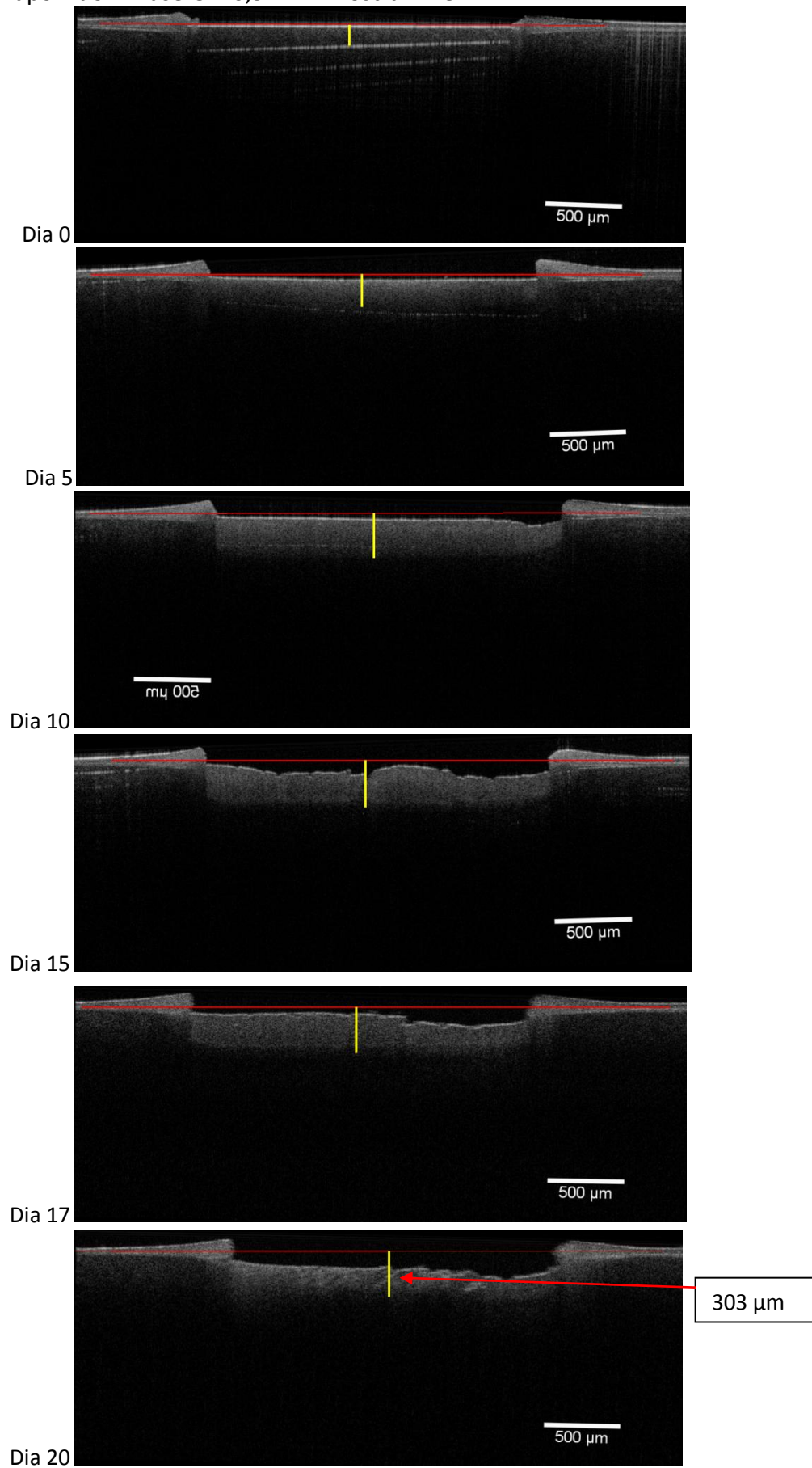


Figura 40: Grupo Laser1 – 1W – Amostra 10L1

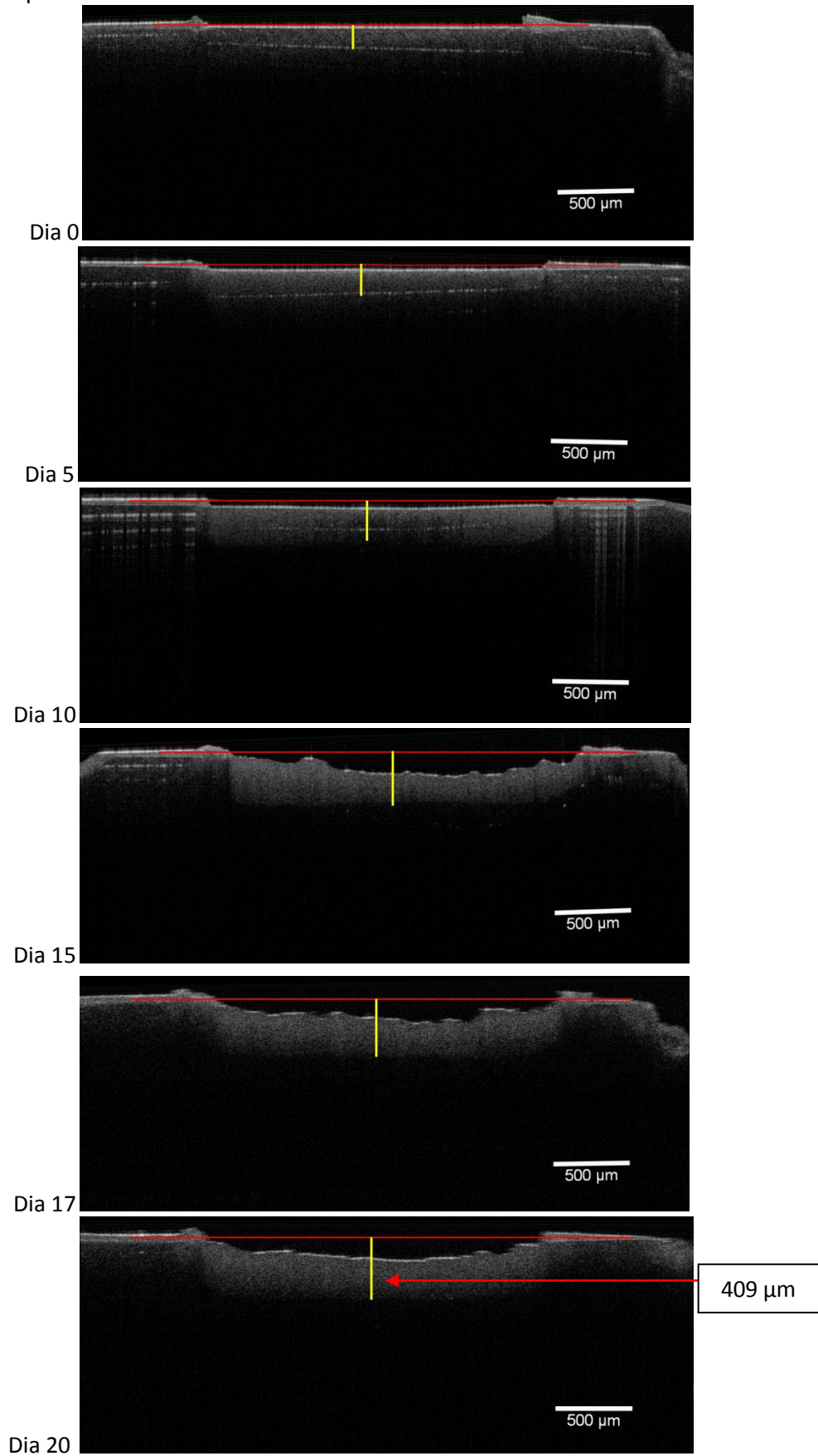


Figura 41: Grupo Laser2 – 0,70 W- Amostra 12L2

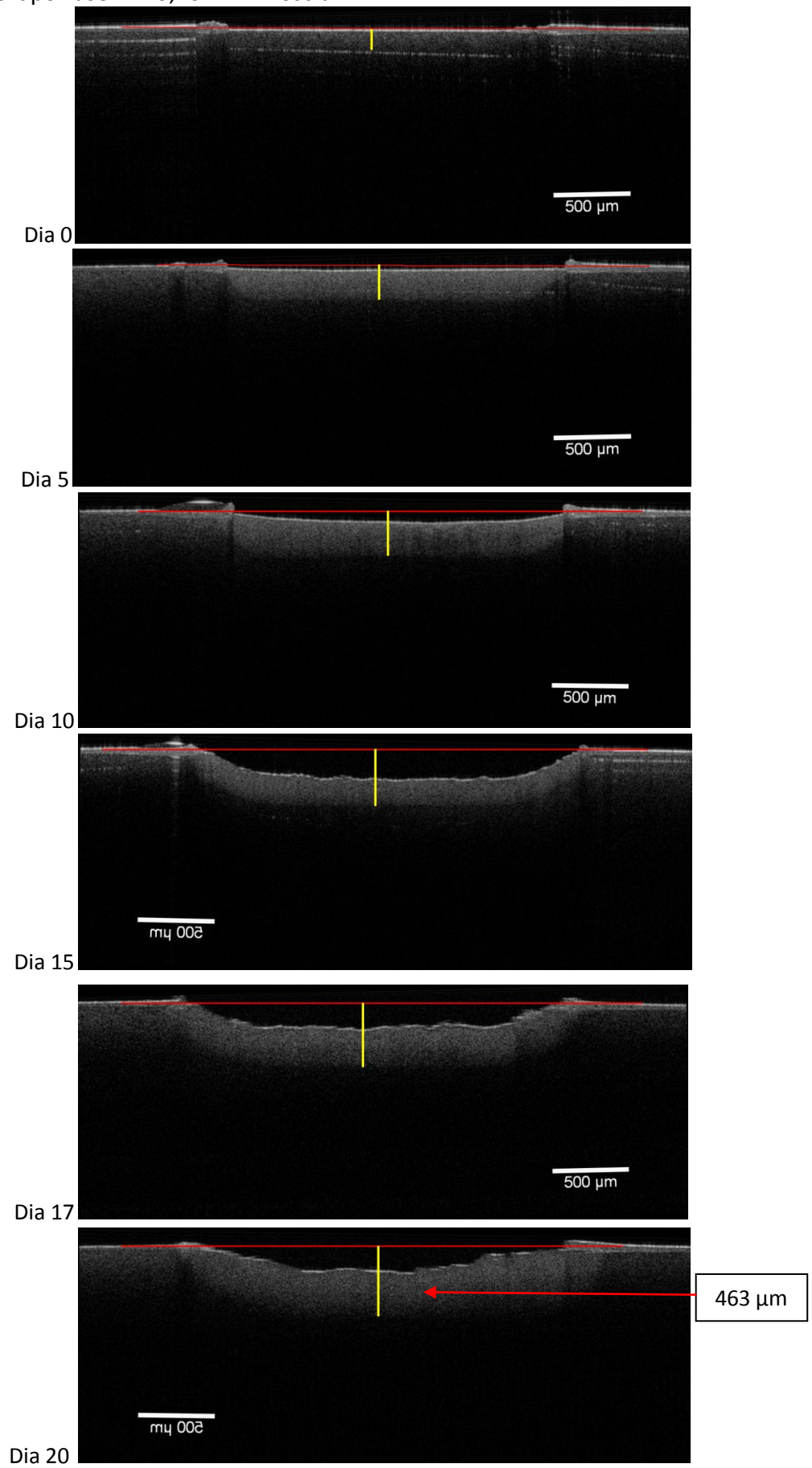


Figura 42: Grupo Laser3 – 0,5 W - Amostra 15L3



### 5.4 Gráficos da profundidade do sinal de OCT

O aumento da profundidade de penetração do sinal de OCT na amostra indica a progressão da desmineralização ao longo do tempo.

#### Grupo C

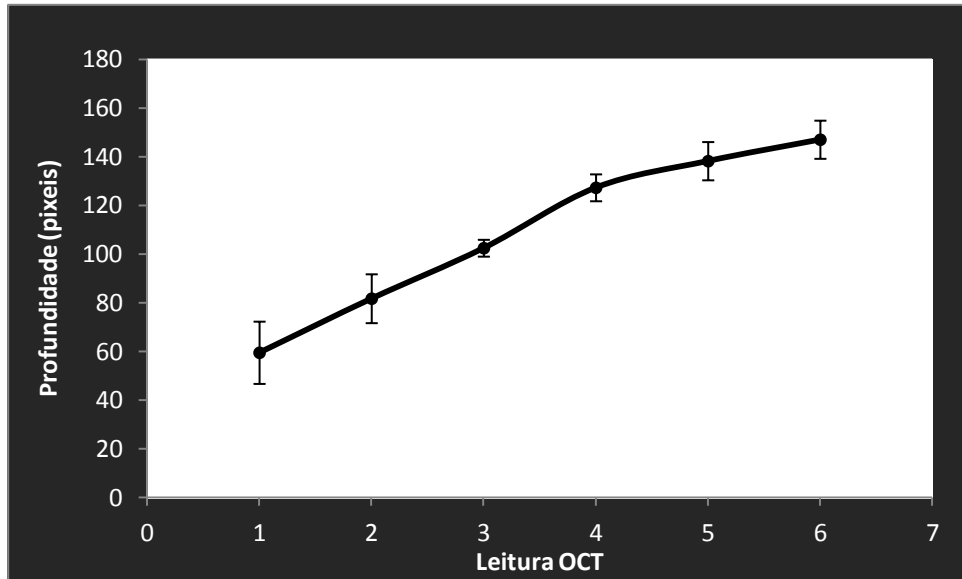


Gráfico 32: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo Controle

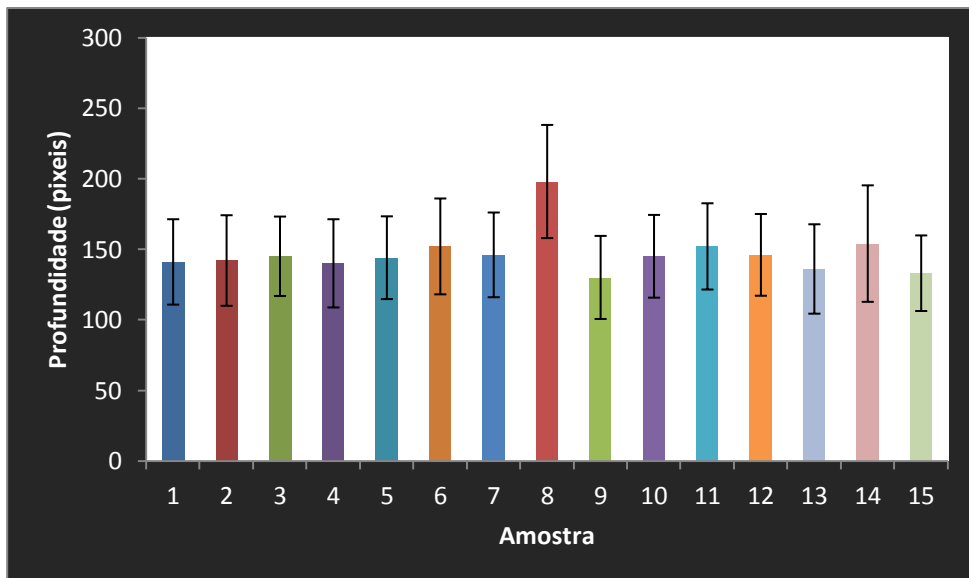


Gráfico 33: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo Controle ao final dos 20 dias de ciclagem ácida

**Grupo F**

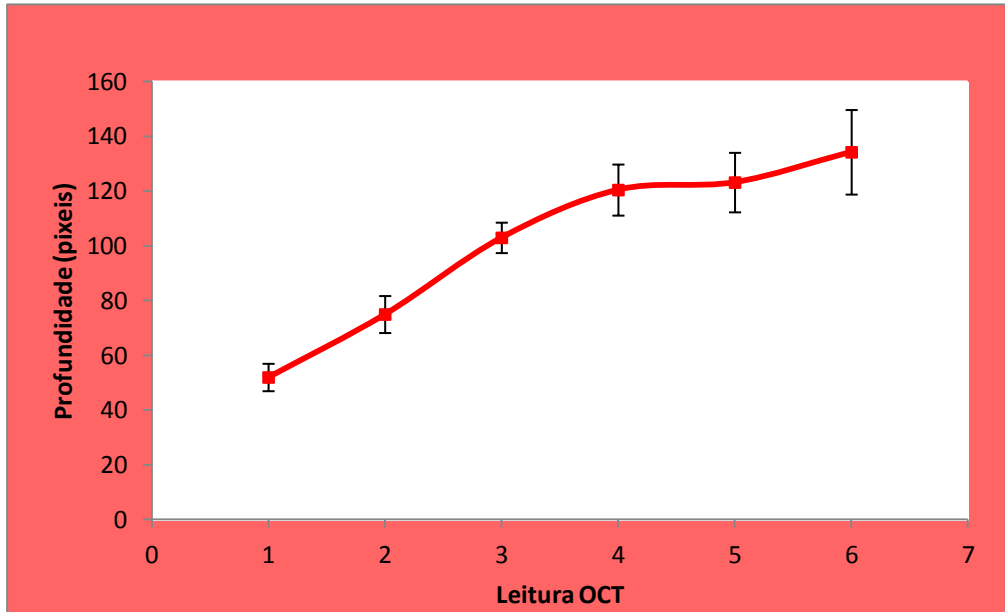


Gráfico 34: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo Flúor

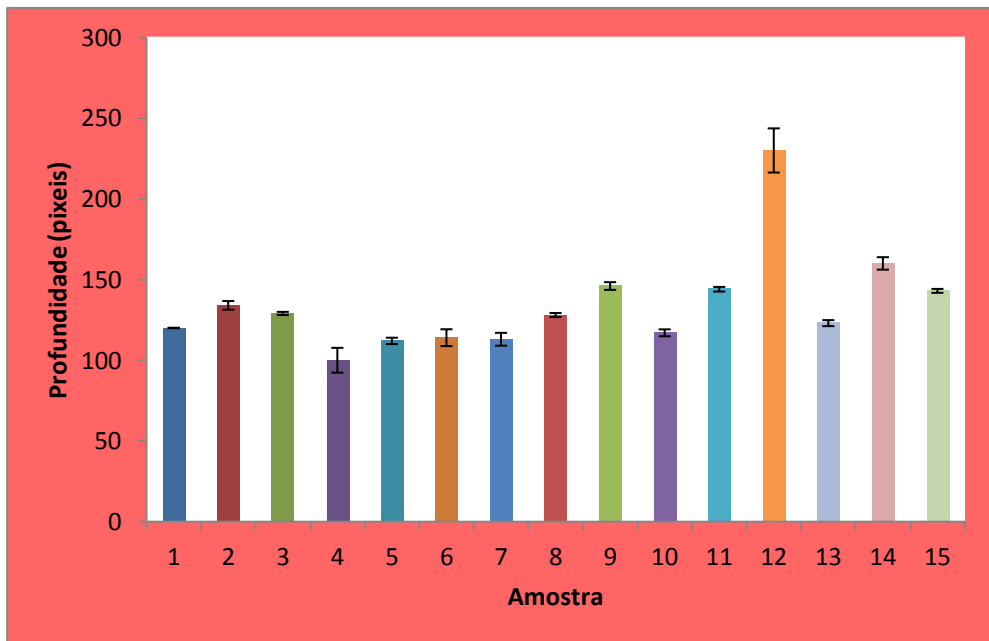


Gráfico 35: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo Flúor ao final dos 20 dias de ciclagem ácida

**Grupo FL1**

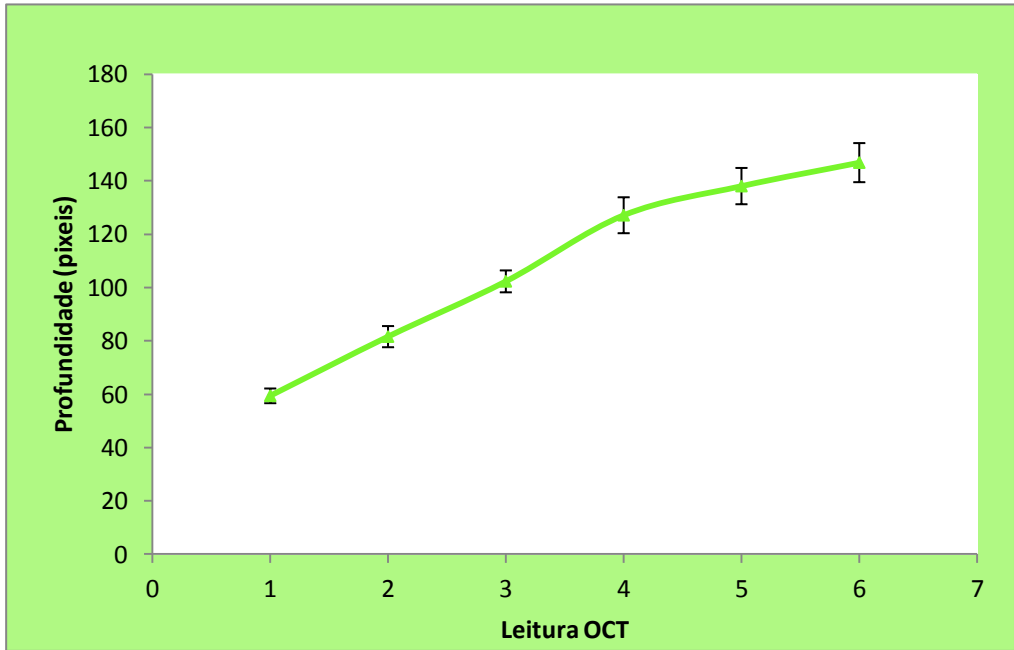


Gráfico 35: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo F + L1

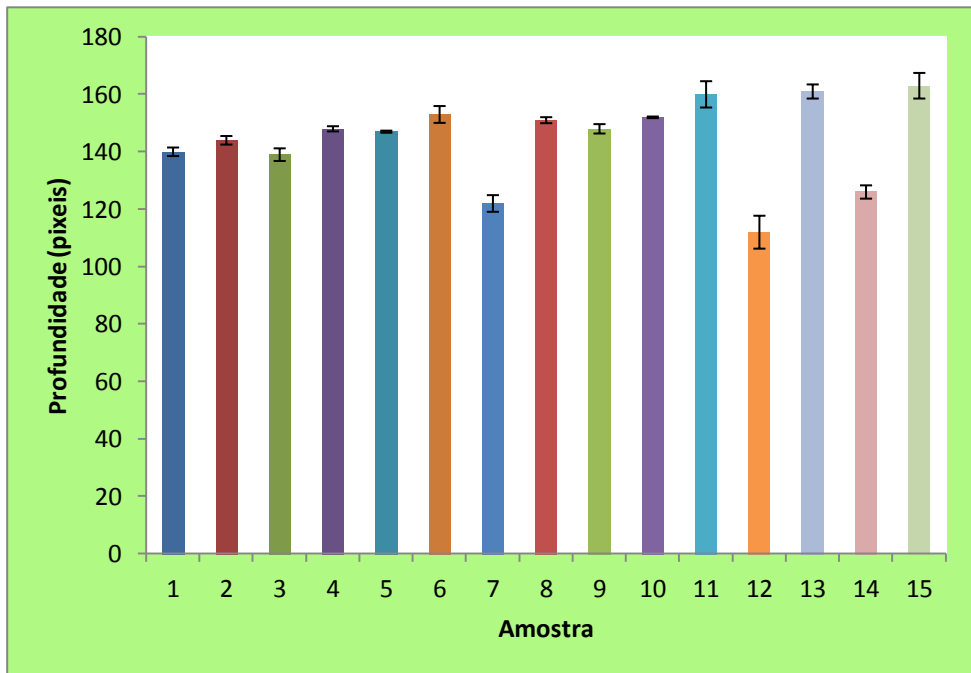


Gráfico 36: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo F + L1 ao final dos 20 dias de ciclagem ácida

Grupo FL2

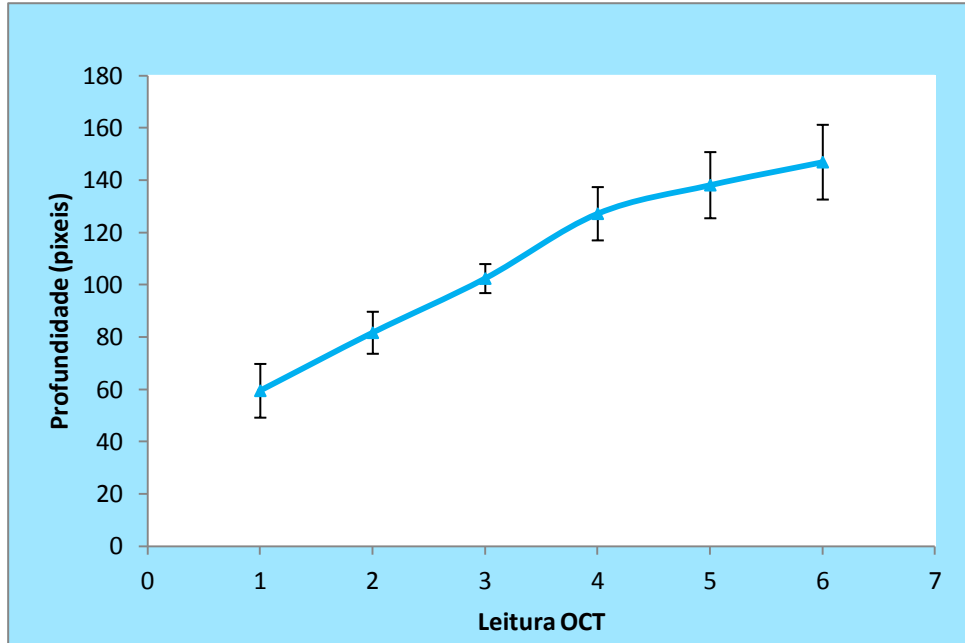


Gráfico 37: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo F + L2

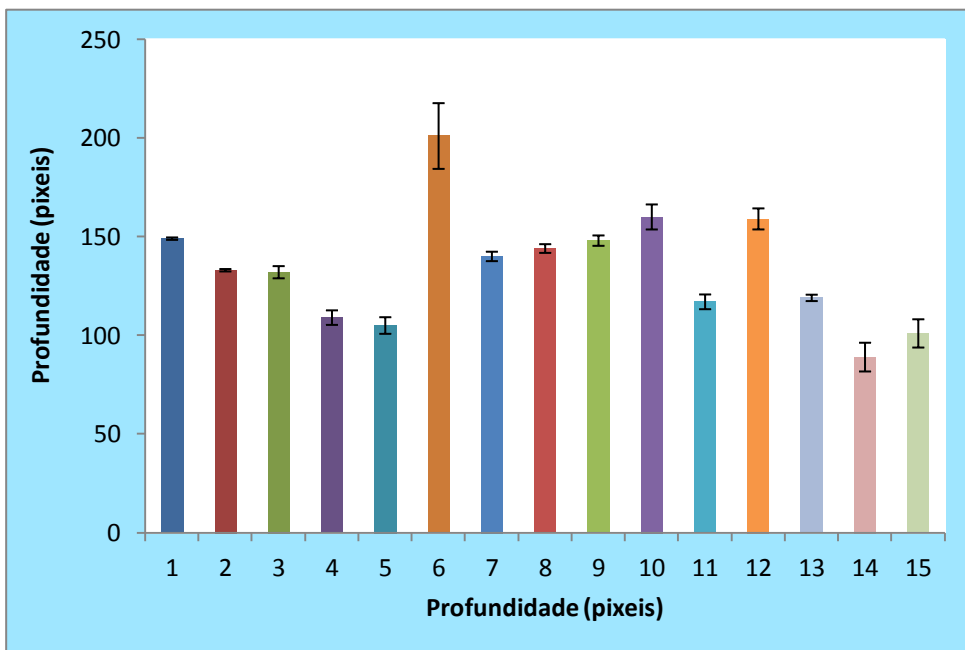


Gráfico 38: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo F + L2 ao final dos 20 dias de ciclagem ácida



Grupo FL3

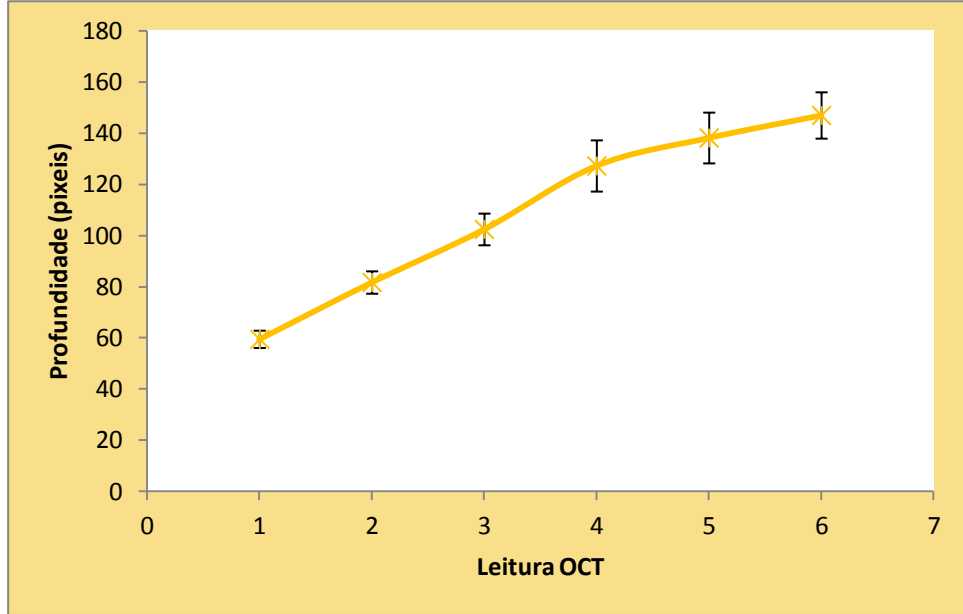


Gráfico 39: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo F + L3

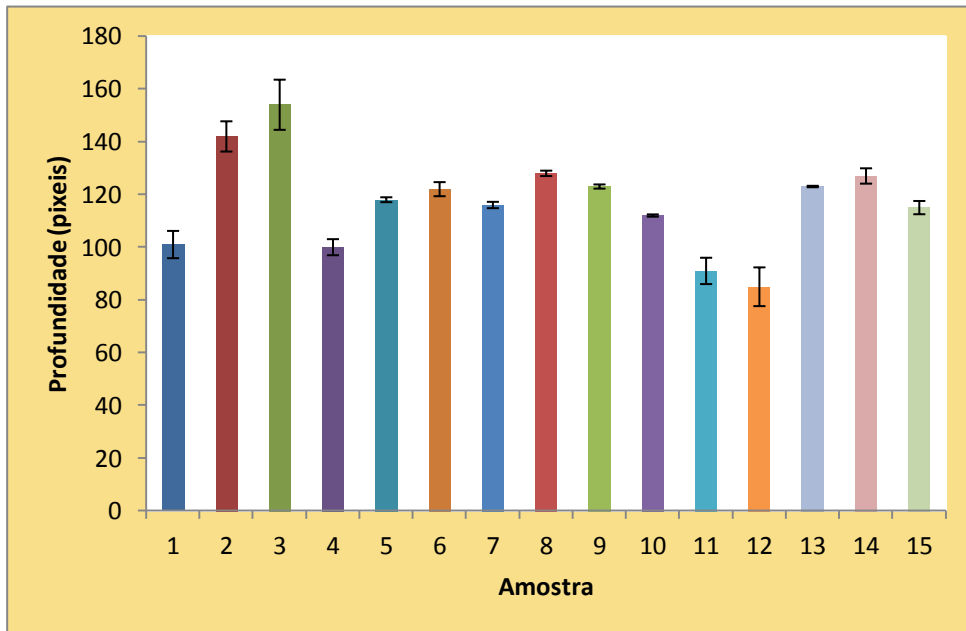


Gráfico 40: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo F + L3 ao final dos 20 dias de ciclagem ácida

Grupo L1

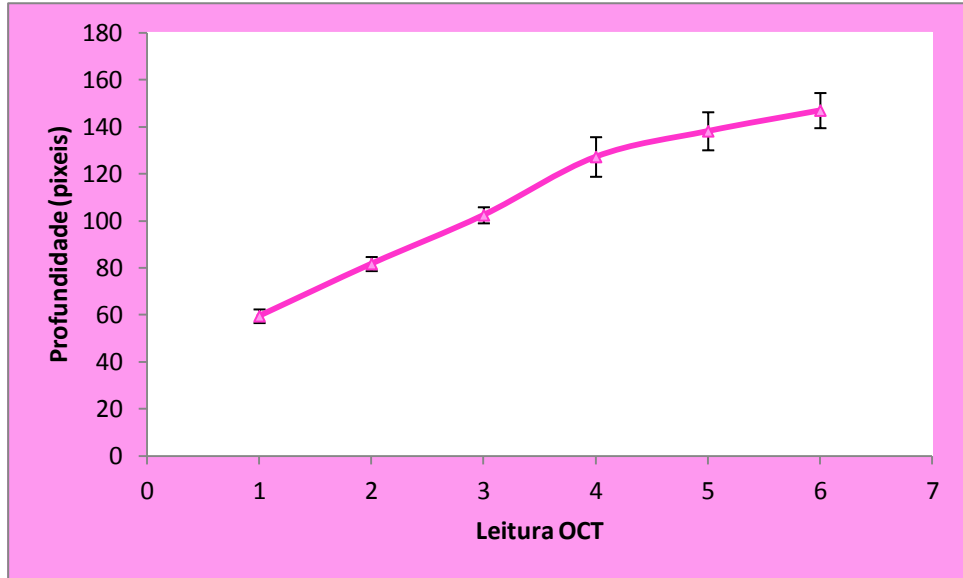


Gráfico 41: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo L1

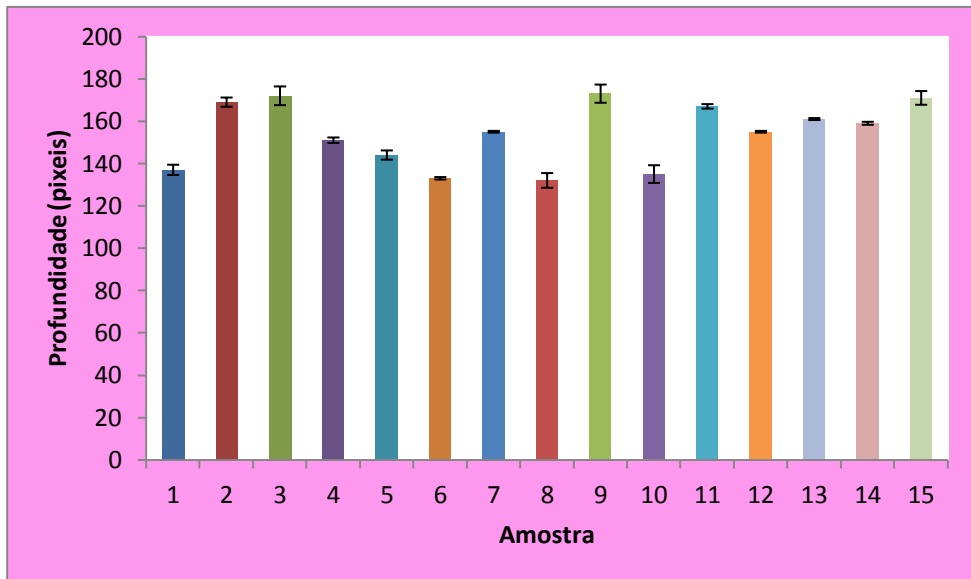


Gráfico 42: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo L1 ao final dos 20 dias de ciclagem ácida

Grupo L2

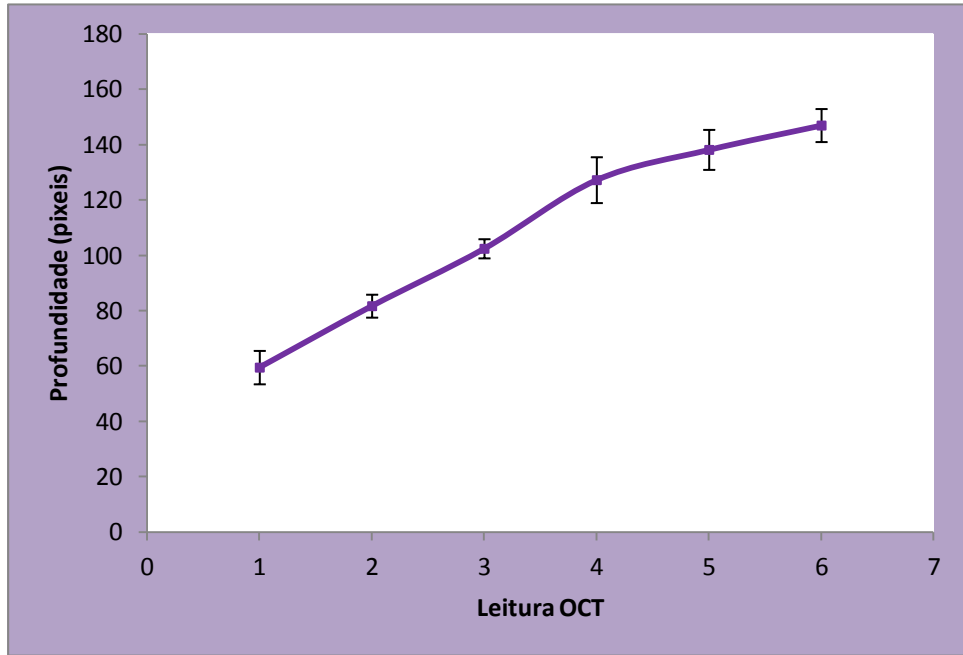


Gráfico 43: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo L2

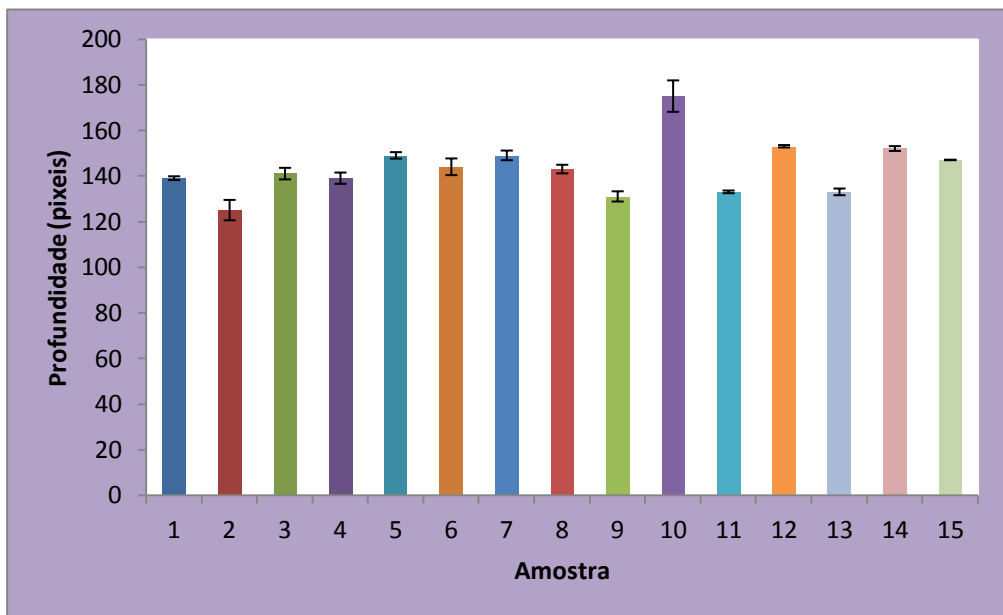


Gráfico 44: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo L2 ao final dos 20 dias de ciclagem ácida

Grupo L3

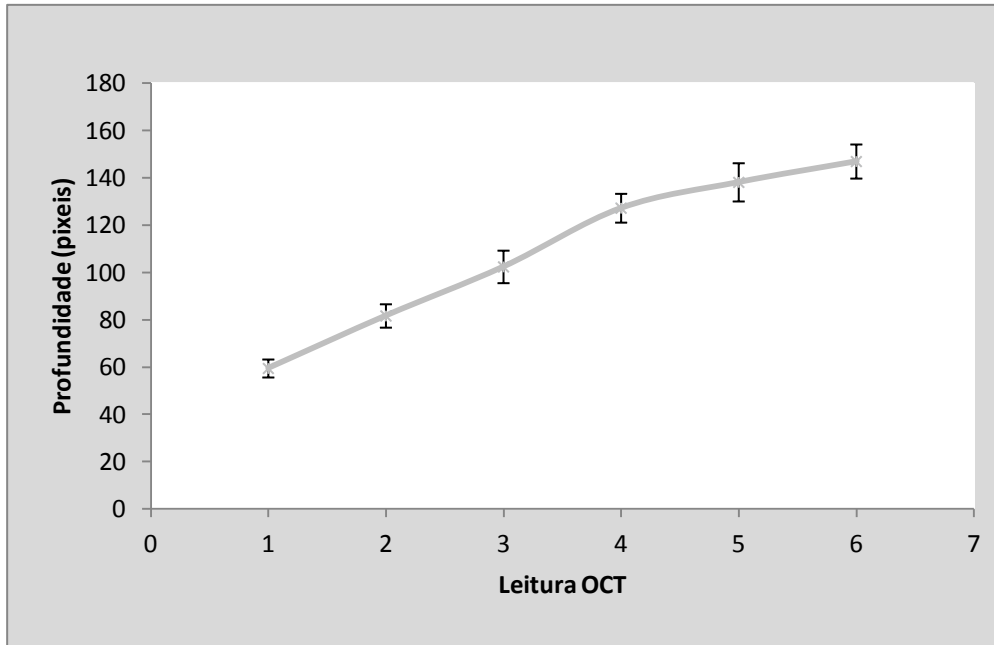


Gráfico 45: Variação da Média do Retroespalhamento X Tempo - Grupo L3

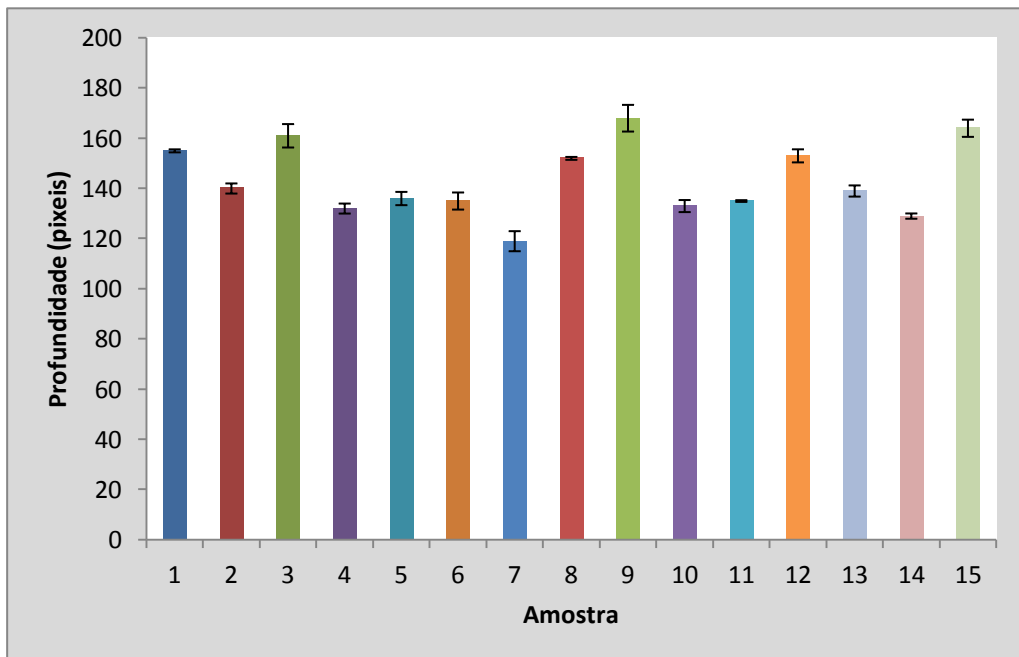


Gráfico 46: Medida da profundidade do retroespalhamento coletado pelo sistema de OCT para cada amostra do grupo L3 ao final dos 20 dias de ciclagem ácida.

## 6 DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho foi, além de avaliar o uso da técnica de OCT (Tomografia de Coerência Óptica) como uma possibilidade de diagnóstico de lesões de erosão e sua progressão, testar a efetividade das técnicas de tratamento empregadas para este fim. Dessa forma, a estocagem das amostras foi feita em água destilada e não em saliva artificial, evitando assim a possibilidade de ganho de superfície mineral (remineralização), devido à precipitação de vários sais minerais, o que poderia interferir no resultado final<sup>138</sup>.

Foram realizadas ciclagens químicas para simular o contato dos ácidos de origem extrínseca e intrínseca, responsáveis pela formação de lesões tipicamente descritas como lesões cervicais não-cariosas ou lesões de erosão.

Uma substância ácida só começa a promover a desmineralização dos tecidos dentários após contato íntimo com a superfície. No caso do esmalte dental, é preciso que haja difusão através da película adquirida, composta por proteínas salivares e glicoproteínas. Na dentina, sendo o objetivo deste estudo, a camada orgânica dificulta a difusão do ácido para regiões mais profundas, além de possuir uma capacidade tampão em relação aos ácidos<sup>22</sup>. Porém, a literatura mostra que a ação dos ácidos, sejam intrínsecos ou extrínsecos, pode ter maior influência em dentina do que em esmalte devido a sua composição menos inorgânica e mais orgânica, com um percentual maior de carbonatos<sup>88, 138</sup>. Hara (2006)<sup>139</sup>, LUSISI (2011)<sup>138</sup> atestam que a progressão das lesões de erosão pode ser significativamente influenciada por: 1) tipo de substrato; 2) ocorrência de ataques/desafios químicos e mecânicos; 3) exposição ao flúor; 4) contato com os tecidos moles da cavidade bucal e língua. Neste contexto, este trabalho *in vitro*, não simulou a condição oral propriamente dita, porém, para melhor análise da progressão das lesões, foram removidos os fatores diferença no substrato (foi utilizado somente dentina padronizada), um desafio somente (desafio químico), exposição ao flúor como tratamento e ausência de contato com tecidos moles da cavidade bucal, impedindo assim possíveis influências sobre os resultados apresentados.

Assim, as amostras foram padronizadas com relação à superfície, mas não foram submetidas à lavagem com ultrassom para a remoção da *smear layer* formada, o

que pode explicar a dificuldade inicial no surgimento de lesões de erosão significativas. A *smear layer* (camada amorfa depositada sobre a superfície dentinária, obliterando os túbulos) presente após raspagem radicular na dentina exposta ao meio bucal também age como uma barreira para a ação desmineralizadora de substâncias ácidas. ZANDIM *et al* (2008) testaram a remoção da *smear layer* com o uso de nove diferentes bebidas isotônicas, através de aplicação tópica ou fricção nas amostras, e nenhuma removeu de forma significativa a *smear layer*<sup>140</sup>. Neste contexto, a presença da *smear layer* modifica a permeabilidade da dentina, mesmo se a maior parte dela for removida<sup>138</sup>. Inicialmente foi proposto um desafio ácido com duração de 5 dias com o ácido cítrico monohidratado, pH 2,3. Porém, após os 5 primeiros dias notou-se que pouca alteração visível havia ocorrido. Dessa forma, foram realizados mais 5 dias de desafio (10 dias no total), modificando a origem do ácido cítrico inicial. Após os 10 dias de ciclagem química, foi observada a formação de uma cavidade com características típicas de lesões de erosão (arredondada, rasa, ampla e sem borda definida).

Apesar da pequena capacidade de remoção da *smear layer* por líquidos isotônicos *in vitro*, vários autores associaram o consumo regular destas bebidas ao desenvolvimento de lesões de erosão<sup>63-66</sup>. A desidratação e a diminuição do fluxo salivar resultantes do exercício físico agem potencializando o efeito erosivo destas bebidas no momento da ingestão, assim como a ingestão com agitação do líquido no interior da cavidade bucal para alívio da sensação de desidratação e um aumento na ocorrência de RGO devido à exercícios extenuantes<sup>25, 66, 138</sup>.

O potencial erosivo de uma substância não depende somente de seu pH, mas também de suas propriedades quelantes do cálcio, capacidade de dissociação e de sua titulação ácida (capacidade tampão)<sup>138</sup>. O pH crítico para o surgimento de lesões de erosão depende tanto da solubilidade do tecido quanto da concentração de minerais como cálcio, fosfato e flúor no meio<sup>138</sup>. O ácido cítrico em pH baixo dissolve a superfície dentária por liberar três íons hidrogênio por cada molécula, que podem se ligar aos íons carbonatos ou fosfatos. Em um pH mais elevado, possui a capacidade de ligar-se aos íons cálcio da estrutura dentária, removendo-os<sup>30, 136</sup>.

De acordo com os dados obtidos, foi possível verificar que nenhum dos tratamentos foi capaz de impedir a progressão das lesões de erosão frente ao desafio ácido imposto (Graf. 28). Estes resultados estão de acordo com os de outros estudos<sup>108, 141</sup>. JORDÃO (2011)<sup>141</sup> não obteve um efeito preventivo para erosão com o uso dos lasers de CO<sub>2</sub> e Nd:YAG como para prevenção de cárie, levantando a hipótese de que em pH abaixo de 4,5 (crítico para erosão) há dissolução das apatitas carbonatadas e também da fluorapatita e hidroxiapatita fluoretada.

Vários outros autores encontraram indícios de aumento na resistência ácida dos tecidos irradiados com Nd:YAG ou na irradiação associada a fluoretos. Este aumento na resistência ácida promovida pelo laser de Nd:YAG tem efeitos clínicos positivos e comprovados na literatura com relação a prevenção de cárie dental. Recentemente, essa característica da irradiação com este comprimento de onda vem sendo estudado para a prevenção e/ou tratamento de lesões de erosão, cuja formação difere-se de uma lesão de cárie<sup>29, 30, 32,33, 104, 106, 138, 141, 142</sup>.

No grupo F (aplicação tópica de flúor) foi possível observar o menor aumento da área medida ao final do experimento, indicando ter sido o grupo onde houve menor perda de dentina. O efeito protetor do flúor tem sido descrito em diversos estudos por promover um aumento na resistência ácida dos tecidos tratados<sup>3-6</sup>, mas a maioria dos autores parece concordar com o fato da camada formada de CaF<sub>2</sub> ser facilmente removida por bebidas ácidas, e os benefícios de sua aplicação isoladamente seriam rapidamente neutralizados<sup>34, 93</sup>, e que para ser eficiente seriam necessárias aplicações freqüentes<sup>87</sup>. LUSSI *et al* (2008)<sup>143</sup> alertaram para o fato de, apesar da grande maioria das pastas de dente utilizadas atualmente serem fluoretadas, a incidência mundial das lesões de erosão continua aumentando com o passar do tempo, significando que mesmo com a grande abrangência do flúor nas populações, existe uma tendência de aumento das lesões de erosão ao longo do tempo.

FAN *et al* (2009)<sup>94</sup>, em experiências *in vitro*, concluíram que a concentração de flúor afeta a morfologia dos cristais formados na superfície do esmalte, e com um 1mg/l de flúor houve o crescimento de cristais de HF hidroxiapatita fluoretada, com formato e tamanho semelhantes aos do esmalte nativo, com potencial de possuírem as

mesmas propriedades mecânicas. Segundo este estudo, o flúor aplicado a baixas concentrações, de forma controlada, pode ser incorporado diretamente a cristais de hidroxiapatita em superfícies atacadas por ácidos, sem haver a formação de partículas esféricas de  $\text{CaF}_2$ .

Com relação aos protocolos do laser de Nd:YAG, em todos os grupos irradiados, houve um aumento brusco da área da lesão imediatamente após as irradiações, principalmente nos grupos L1 e FL1, onde foi empregada a maior potência (1 W). O uso do laser de Nd:YAG em modo contato, e o aumento de temperatura pode causar a formação de crateras<sup>33, 106 - 108, 144</sup>. As superfícies mostraram-se irregulares após a irradiação com o laser de Nd:YAG com 1W de potência no modo contato, com destruição das bordas da camada de verniz ácido resistente.

Quando utilizado no modo não contato, a distância da fibra até a superfície da amostra provoca uma diminuição na densidade de energia ( $DE = E_{\text{pulso}} / A$ ; determina os efeitos da radiação sobre o tecido) e na densidade de potência ( $DP = P / A$ ; determina a possibilidade de dano térmico no tecido) entregues ao tecido, por serem as duas grandezas inversamente dependentes da área irradiada. Quando o laser é afastado de tecido alvo, a área irradiada aumenta.

No trabalho de BIRANG (2006)<sup>105</sup>, o laser foi usado em modo não contato, não ocorrendo crateras, e a irradiação com 1 W foi mais eficiente no selamento dos túbulos dentinários do que com a potência de 0,5 W.

ODA *et al* (2001)<sup>104</sup> usaram o laser de Nd:YAG em dentina, no modo sem contato, com os parâmetros de 0,6 W, 15 Hz, 40 mJ, movimentos de varredura sem contato, a uma distância de 1 mm da ponta da fibra até a amostra, e evidenciaram a fusão dentinária com vedamento dos túbulos sem presença de trincas, e o condicionamento com ácido fosfórico não foi capaz de reverter este quadro. Dessa forma, a realização do modo contato para a prevenção das lesões, pode ser entendida como não benéfico. Outros trabalhos utilizando o mesmo equipamento e com protocolos similares, porém no modo não-contato devem ser realizados. Clinicamente, as lesões erosivas em dentina são mais endurecidas do que as amostras experimentais, que possuem uma superfície mais resiliente e macia<sup>138</sup>. Estas crateras podem explicar porque os grupos nos



quais o laser foi utilizado apresentaram uma área final maior do que todos os grupos, inclusive do que o grupo controle, no qual nenhum tratamento foi efetuado. Porém, avaliando-se as áreas das lesões a partir do dia 15, pode-se observar que o aumento nos grupos irradiados é mais gradual, compatível com o aumento dos grupos Controle e Flúor (Graf.29).

Magalhães *et al*<sup>108</sup> compararam a eficácia da aplicação em dentina de gel de FFA, de um verniz fluoretado, da irradiação com laser de Nd:YAG em contato nos parâmetros de 0,5W, 0,75 W e 1,0 W, e a associação do laser de Nd:YAG a 0,75 W com o FFA e com o verniz fluoretado. Os melhores resultados foram obtidos com o grupo tratado com FFA, corroborando com os resultados do presente estudo. O laser não foi eficiente nos parâmetros utilizados, e os autores sugerem que a ocorrência de crateras pelo modo contato tornaria a superfície mais susceptível à ação dos ácidos, como o que aconteceu neste trabalho.

HOSSAIN *et al*<sup>32</sup> irradiaram amostras de esmalte e dentina com um laser de Nd:YAG em parâmetros mais elevados do que os utilizados neste trabalho (1W, 2W e 3W), usando um fotoabsorvedor. Em seguida, as amostras foram imersas durante 24 h em uma solução de ácido láctico (pH 4,8). A quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  ppm foi medida através de espectrofotometria de força atômica e as alterações morfológicas avaliadas através de MEV. Os menores valores de  $\text{Ca}^{2+}$  dissolvido foram encontrados no grupo irradiado com 3W. A MEV mostrou nos grupos laser a *smear layer* fundida e uma camada adjacente termicamente alterada. Os autores não esclarecem se o laser foi usado no modo contato ou não-contato, mas é sabido que a presença do fotoabsorvedor limita os efeitos térmicos do Nd:YAG à superfície, provocando menor dano térmico.

JORDÃO (2011)<sup>141</sup> testou o aumento de resistência ácida em amostras de esmalte e dentina com aplicação de fluoretos, irradiação com o laser de  $\text{CO}_2$  e com o laser de Nd:YAG (com e sem fotoabsorvedores com as seguintes densidades de energia: 42,4  $\text{J}/\text{cm}^2$ ; 56,6  $\text{J}/\text{cm}^2$ , 84,9  $\text{J}/\text{cm}^2$  e 99,05  $\text{J}/\text{cm}^2$ ), em modo contato, três aplicações durante 10 s com 10 s de intervalo. Concluiu que a aplicação de fluoreto ainda é o tratamento com melhores resultados na erosão dentária, e que os lasers não foram eficientes na prevenção da erosão *in vitro*, mesmo com o uso de fotoabsorvedores, inclusive piorando

o desempenho do flúor neste sentido. As amostras previamente erodidas apresentaram resultados piores do que as amostras híidas.

MAEDA (2009) <sup>142</sup> obteve resultados positivos ao usar os lasers de Er:YAG e Nd:YAG no controle de lesões de erosão em dentina *in situ*, na presença de desafios subsequentes, em um ambiente que pudesse favorecer a remineralização. Os resultados não mostraram diferenças em relação ao grupo não tratado quando não houve novos desafios ácidos.

Quando calculado o percentual de aumento da área nos dias subsequentes ao tratamento, observamos que o do grupo Controle foi o maior de todos, seguido pelo grupo L1. Da mesma forma que explicado anteriormente, a variação negativa é devida a uma diferença no local de leitura da amostra nos diferentes tempos. Sugere-se em um próximo trabalho a leitura por OCT em três diferentes locais da amostra.

Nos grupos FL2 e F o percentual de aumento da área foi menor do que nos grupos restantes. Já nos grupos FL3 e L2, as áreas apresentaram valores menores no decorrer do tempo, provavelmente por uma pequena diferença no local das medições nos diferentes dias. Os valores mostram que os grupos onde foram usadas as menores energias apresentaram um melhor resultado com relação à perda de estrutura dentinária. Em temperaturas inferiores a 400 °C, uma decomposição parcial da matriz orgânica pode ocorrer, com uma obstrução dos espaços interprismáticos no esmalte e comprometimento da difusão de íons ácidos e redução da desmineralização do esmalte (HSU *et al* 2000) <sup>145</sup>.

Avaliando-se mais uma vez o Gráfico 28 (Pág 83), observa-se que em todos os grupos a progressão da perda de tecido na metade final do experimento é menor quando comparada aos primeiros dias de desafio ácido. Após 30 minutos de imersão em ácido cítrico com baixo pH, uma densa rede de fibras de colágeno se apresenta, e aumenta com o tempo de exposição ao agente desmineralizador, até resultar em uma zona completamente desmineralizada, seguida por uma camada parcialmente desmineralizada, e abaixo desta, a dentina sadia <sup>24, 89, 138</sup>.

De acordo com GANSS *et al* (2007)<sup>89</sup>, esta rede de fibras colágenas constitui uma contra-indicação ao uso da perfilometria mecânica pela maciez da superfície, e da perfilometria óptica, que escanearia apenas a camada orgânica. Após a avaliação de amostras de dentina erodida através de perfilometria mecânica e óptica, os valores foram comparados com novas leituras realizadas depois das amostras ficarem imersas em colagenase para remoção da camada orgânica, e valores significativamente mais elevados foram obtidos. Os mesmos valores iniciais obtidos por perfilometria, quando comparados a microradiografias foram menores, e após a remoção da colagenase foram compatíveis, comprovando que sem a remoção da camada orgânica, falsos resultados são obtidos na dentina avaliada por perfilometria.

Neste estudo, as lesões de erosão foram avaliadas através da OCT, sem a necessidade de destruição das amostras, o que permitiu o seu acompanhamento ao longo dos 20 dias de duração do experimento. A velocidade de aquisição do equipamento utilizada no experimento – 3 fps – permite a captação de imagens *in vivo*, sendo possível utilizar até 15 fps. Mesmo que um paciente não permaneça completamente imóvel no momento da aquisição da imagem, a mesma não será prejudicada.

A técnica de OCT apresenta inúmeras vantagens sobre outras técnicas existentes para avaliar alterações que afetam os tecidos dentais, como alta resolução de imagem, captura de imagens em tempo real e sem contato, de modo não destrutivo, uso de radiação não ionizante e a possibilidade de diagnóstico precoce de lesões antes do surgimento de sinais clínicos<sup>39, 128, 146, 147</sup>. Neste estudo, o aumento do sinal de OCT pôde ser visualizado logo na segunda leitura (OCT 2) antes da percepção das lesões de erosão (só a partir da OCT 3). A perda de minerais altera as propriedades ópticas dos tecidos dentais, como espalhamento, reflexão, absorção e fluorescência, pelo surgimento de poros e maior incorporação de líquidos<sup>110, 112, 115, 118, 122, 123, 129</sup>.

O uso da OCT também mostrou-se promissor para o acompanhamento das lesões de erosão em dentina. Manesh *et al* (2008)<sup>148</sup> utilizaram um dispositivo PS-OCT para avaliação da progressão da desmineralização provocada por lesões de cárie em dentina após tratamentos com flúor e com os lasers de Er:YAG. O tratamento laser não foi eficiente em aumentar ou diminuir a taxa de desmineralização da dentina. A PS-OCT foi

bem sucedida ao medir a desmineralização nas superfícies das amostras, e verificar a inibição da desmineralização pelo flúor, assim como ao medir a refletividade das áreas irradiadas com os lasers. Os resultados obtidos através da PS-OCT foram positivamente comparados com os resultados de análises através de PLM e TMR. Em um estudo subsequente <sup>149</sup>, os autores usaram a OS-OCT para testar a eficiência de agentes anti-cáries, incluindo flúor e irradiações com os lasers de Er:YAG, Nd:YAG e TEA CO<sub>2</sub> em dentina. A técnica foi bem sucedida para medir a inibição da desmineralização pelo uso do flúor. Os lasers não diminuíram ou aumentaram a taxa de desmineralização da dentina.

Assim como na análise da perda de tecido pela erosão, a análise da profundidade do sinal de OCT aumentado mostrou melhores resultados para os grupos FL3, F e FL2. A profundidade em todas as imagens foi avaliada a partir da linha vermelha correspondente à superfície íntegra das amostras, com o uso do software ImageJ.

Nos primeiros dias de desafio ácido, as lesões de erosão ainda não eram visíveis a olho nu, e mesmo durante as leituras de OCT o desnível não foi facilmente visualizado, e foi necessário o aumento do tempo do desafio ácido de cinco para dez dias.

Entretanto, ao comparar as imagens de cada amostra sequencialmente, e analisando-se a extensão da faixa desmineralizada nas imagens, o aumento da mesma foi facilmente percebido, o que reforça a vantagem da OCT em detectar precocemente as alterações ópticas nos tecidos dentais oriundas da desmineralização.

No Gráf. 32 (pág. 90), observamos que no grupo FL3 houve o menor aumento percentual na progressão da faixa desmineralizada, compatível com os resultados encontrados na análise da progressão da lesão (aumento da área de dentina perdida). Tais resultados apontam para um melhor desempenho do F quando associado a densidades menores de energia, como encontrado no resultado de outros estudos <sup>31, 108</sup>.

O grupo L1, onde foi registrada a maior perda de tecido e a maior faixa desmineralizada ao final do experimento, apresentou uma progressão menor da faixa desmineralizada ao longo do tempo. Apesar da formação de crateras, a superfície derretida parece agir como dificultadora à difusão do ácido. É possível que trincas

formadas pela irradiação laser com potências maiores permitam a difusão do ácido apesar da superfície fundida. A presença das mesmas poderia ser detectada através de técnicas de microscopia, não realizadas neste estudo.

O grupo Flúor apresentou um aumento na velocidade de progressão da desmineralização entre os dias 17 e 20 do que entre os dias 15 e 17, provavelmente devido à pouca estabilidade dos depósitos de cristais de  $\text{CaF}_2$  formados, removidos na presença do ácido<sup>25, 93, 94</sup>.

Sendo este um trabalho *in vitro*, inicial, para a mensuração da perda clínica de estrutura dentinária através da Tomografia de Coerência Óptica, muita atenção se deve ter ao avaliar as amostras. Observou ser de extrema importância e utilidade o equipamento utilizado, porém padronizações com relação à mensuração do local de perda de estrutura dental devem ser realizadas. A OCT apresenta potencial promissor quando da utilização clínica.

Outros protocolos de prevenção das lesões de erosão devem ser estudados, com diferenças no modo de irradiação com o laser de Nd:YAG, assim como associações com outros produtos e tecnologias.

É importante também enfatizar que a prevenção de qualquer patologia apresenta-se com um custo/benefício superior frente ao tratamento de uma doença instalada e, que a identificação precoce dos fatores de risco (químicos, comportamentais e biológicos) e uma intervenção apropriada, incluindo mudanças comportamentais do paciente são essenciais na prevenção das lesões de erosão, para que medidas terapêuticas e preventivas possam ser realizadas, assegurando sucesso ao longo do tempo.

## 7 CONCLUSÕES

Dentro das limitações de um trabalho *in vitro*, pode-se concluir que:

- Nenhum dos tratamentos propostos foi capaz de impedir a evolução das lesões de erosão.
  
- O grupo tratado com flúor apresentou a menor perda de dentina ao final do experimento. Os grupos laser onde as menores potências foram utilizadas apresentaram resultados superiores aos grupos com maior potência, onde houve uma maior perda de tecido.
  
- A OCT mostrou ser uma técnica eficaz para o diagnóstico e acompanhamento de lesões de erosão *in vivo*, permitindo visualizar o aumento da progressão da desmineralização das amostras. Foi possível visualizar um aumento no sinal de OCT antes da detecção visual das lesões de erosão.

## **8. TRABALHOS FUTUROS**

Em trabalhos futuros, os resultados obtidos das leituras através da OCT podem ser comparados com outras técnicas, como microscopias eletrônicas de varredura, microradiografias e perfilometria para verificar as alterações estruturais e comparação das medições.

Mais pesquisas devem ser realizadas para uma maior adequação dos equipamentos de OCT à prática clínica diária, inclusive buscando um melhor acesso às diferentes áreas da cavidade oral.

Estudos subsequentes podem ser realizados com diferentes parâmetros de irradiação laser ou com um modo de uso diferente (não contato).

Associações com outros fatores de risco à erosão dental podem ser investigadas, tais como a associação das ciclagens químicas com ciclagens mecânicas (simulação de escovação).

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. BRATTHALL D, HÄNSEL-PETERSSON G, SUNDBERG H. Eur Reasons for the caries decline: what do the experts believe? J Oral Sci. 1996 Aug; 104(4 (Pt 2)):416-22; discussion 423-5, 430-2.
2. EINARSDOTTIR KG, BRATTHALL D. Restoring oral health. On the rise and fall of dental caries in Iceland. Eur J Oral Sci. 1996 Aug; 104(4 ( Pt )):459-69.
3. NARVAI PC. Cárie dentária e flúor: uma relação do século XX. Ciência & Saúde Coletiva. 2000; 5(2):381-392.
4. ARMSTRONG WD, BREKKHUS BA. Possible relationship between the fluorine content of enamel and resistance to dental caries J D Research. 1938; 17:393-399.
5. AOBA T. The Effect of Fluoride On Apatite Structure and Growth. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 1997; 8(2):136-153.
6. CURY JA. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri LN *et al.* Odontologia Restauradora: fundamentos e possibilidades. São Paulo: Ed. Santos, 2001; cap. 2:31-68.
7. BARBOSA LPB, PRADO JR RR, MENDES RF. Lesões cervicais não-cariosas: etiologia e opções de tratamento restaurador. Rev Dent Online. 2009 jan-mar; 8(18):5-10.
8. KARIM NBSA, ISMAIL NM, NAING LIN, ISMAIL AR. Tooth wear prevalence and sample size determination: a pilot study. Malaysian Journal of Medical Sciences. 2008 oct; 15(4):35-40.
9. HARA AT, PURQUERIO BM, SERRA MC. Estudo das lesões cervicais não cariosas: aspectos biotribológicos. RPG Rev Pós Grad. 2005; 12(1):114-118.
10. JAPUKOVIC S, VUKOVIC A, KORAC S, TAHMISCIJA I, BAJSMAN. The prevalence, distribution and expression of noncarious cervical lesion (NCCL) in permanent dentition. A Mat Soc Med. 2010; 22(4):200-204.
11. BARTLETT D. A new look at erosive tooth wear in elderly people. J Am Dent Assoc. 2007 Sep; 138 Suppl:21S-25S. Errata em: J Am Dent Assoc. 2008 Mar; 139(3):252-3.
12. RIHS B, DE SOUSA MLR, WADA RS. Prevalência de cárie radicular em adultos e idosos na região sudeste do Estado de São Paulo, Brasil. Cad. Saúde Pública. RJ, 2005 jan-fev; 21(1):311-316.
13. MOLENA CC, RAPOPORT A, REZENDE CP, QUEIROZ CM, DENARDIN OV. Lesões não cariosas no idoso. Rev. Bras. Cabeça e Pescoço. 2008 Jul; 37(3):152-155.
14. SOBRAL MAP, NETTO NG. Aspectos clínicos da etiologia da hipersensibilidade dentinária cervical. Rev Odont Univ São Paulo. 1999; 13(2):189-195.



15. DABABNEH RH, KHOURI AT, ADDY M. Dentine hypersensitive – an enigma? A review of terminology, epidemiology, mechanisms, aetiology and management. *British Dent Journal*. 1999 dec; 187(11):606-611.
16. HOEPPNER MG, MASSAROLLO S, BREMM LL. Considerações clínicas das lesões cervicais não cariosas. *Publ UEPG Ci. Biol. Saúde*. Ponta Grossa. 2007 set-dez; 13(3/4): 81-86.
17. FARIA GJM, VILLELA LC. Etiologia e Tratamento da hipersensibilidade dentinária em dentes com lesões cervicais não cariosas. *Rev Biociência Taubaté*. 2000 jan-jul; 6(1):21-27.
18. CID 10. Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde. Versão: 1.6c.1998.p. 115. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br/cid10/download.htm>.
19. GANSS C. Definition of erosion and links to tooth wear. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger 2006; 20:9-16.
20. LITONJUA LA, ANDREANA S, BUSH PJ, TOBIAS TS, COHEN RE. Noncarious cervical lesions and abfractions: A re-evaluation. *The Journal of the American Dental Association* 2003 jul; 134(7):845-850.
21. CATELAN A, GUEDES APA, SANTOS PH. Erosão dental e suas implicações sobre a saúde bucal. *RFO*. 2010 jan-abr, 15 (1):83-86.
22. ZERO DT, LUSSI A. Erosion- chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J*. 2005. 55(4):285-290.
23. ZERO DT, LUSSI A. Behavioral Factors. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2006; 20(7):100-105.
24. MAGALHÃES AC, WIEGAND A, RIOS D, HONÓRIO HM, BUZALAF MAR. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci*. 2009; 17(2):75-86.
25. LUSSI A. Dental erosion novel remineralizing agents in prevention or repair. *Adv Dent Res*. 2009; 21:13-16.
26. LUSSI A, HELLWIG E. Risk Assessment and Preventive Measures In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2006; 20(12):190-199.
27. FEATHERSTONE JDB, NELSON DGA. Laser effects on dental hard tissues. *Adv Dent Res*. 1987, oct; 1(1):21-26.
28. BACHMANN L, ZECELL DM. Estrutura e composição do esmalte e dentina – Irradiação Laser e Tratamento térmico. Ed Livraria da Física. 2005. Cap 2 p4-49.
29. ANA PA, BACHMANN L, ZECELL DM. Lasers effects on Enamel for caries prevention. *Laser Physics*. 2006. 16(5):865-875.

30. RIOS D, MAGALHÃES AC, MACHADO MAAM, DA SILVA SMB, LIZARELLI RFZ, BAGNATO VS, BUZALAF MAR. *In Vitro* evaluation of enamel erosion after Nd:YAG irradiation and fluoride application. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2009; 27(5):743-747.
31. ROHANIZADEH R, LEGEROS RZ, FAN D, JEAN A, DACULSI G. Ultrastructural properties of laser irradiated and heat treated dentin. *J Dent Res*. 1999 dec; 78(12):1829-1835.
32. HOSSAIN M, NAKAMURA Y, LIMURA Y, YAMADA Y, KAWANAKA T, MATSUMOTO K. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*. 2001; 19(2):105-108.
33. BEDINI R, MANZON L, FRATTO G, PECCI R. Microhardness and morphological changes induced by Nd:YAG laser on dental enamel: an *in vitro* study. *Ann 1st Sanità*. 2010; 46(2):168-172.
34. LUSSI A, JAEGGI T. Erosion- diagnosis and risk factors. *Clin Oral Invest*. 2008; 12 Suppl1:S5-S13.
35. AMAECHI BT, HIGHAM SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *Journal of Dentistry*. 2005; 33:243-252.
36. MESSIAS DCF, SERRA MC, TURSSI CP. Estratégias para prevenção e controle da erosão dental. *RGO*. 2011 jan-jun; 59:7-13.
37. O'SULLIVAN E, MILOSEVIC A. Clinical Guideline on Dental Erosion: Diagnosis, prevention and management of dental erosion. Royal College of Surgeons of England .Faculty of Dental Surgery. Inglaterra. 2007.
38. GANSS C, LUSSI A. Diagnosis of Erosive Tooth Wear. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2006; 20(4):32-43.
39. FREITAS AZ. Caracterização de Tecidos Biológicos através de Tomografia por Coerência Óptica. Tese(Doutorado) Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Materiais. São Paulo,SP.2007.
40. ADDY M, SHELLIS RP. Interaction between Attrition, Abrasion and erosion in Tooth Wear. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2006; 20(3):17-31.
41. RIOS D, HONÓRIO HM, MAGALHÃES AC, BUZALAF MAR, PALMA-DIBB RG, MACHADO MA, SILVA SM. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an *in situ* study. *Bras Oral Res*. 2006; 20(2):148-154.
42. KHAN F, YOUNG WG, SHAHABI S, DALEY TJ. Dental cervical lesions associated with occlusal erosion and attrition. *Australian Dental Journal*, 1999; 44(3):176-186.

- 43.. BARTLETT DW, SHAH P. A critical review of non-cariou cervical (wear) lesions and the role of abfraction, erosion, and abrasion. *J Dent Res.* 2006; 85(4):306- 312.
44. LUSSI A. Erosive Tooth Wear – A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increasing Knowledge. . In: Lussi A , *Dental Erosion: From diagnosis to therapy.* Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(1):1-8.
- 45.BORCIC J, ANIC I, UREK MM, FERRERI S. The prevalence of non-cariou cervical lesions in permanent dentition. *Journal of Oral Rehabilitation.* 2004; 31:117–123.
- 46.SOBRAL MAP, LUZ MAAC, GAMA-TEIXEIRA A, GARONNE-NETTO N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. *Pesq Odont Bras.* 2000 out-dez; 14(4):406-410.
- 47.ZERO DT, LUSSI A: Etiology of enamel erosion: intrinsic and extrinsic factors. In Addy M, Embery G, Edgar WM, Orchardson R (eds): *Tooth Wear and Sensitivity.* London, Martin Dunitz. 2000; 121–140.
- 48.BARTLETT D, DUGMORE C. Pathological or physiological erosion—is there a relationship to age? *Clin Oral Invest* (2008) 12 (Suppl 1):S27–S31.
- 49.ECCLES JD. Tooth Surface loss from Abrasion, Attrition and Erosion. *Dental Update.* 1982 9(7):373-381.
- 50.MILLER WD. Experiments and Observations on the Wasting of Tooth Tissue Variously designated as Erosion, Abrasion, Chemical Abrasion, Denudation, Etc. 1907. *Jan.* 49:1-23.
- 51.MURAKAMI C. Indicadores de risco associados à prevalência de erosão dentária em pré-escolares no Município de Diadema, São Paulo. *Dissertação (Mestrado) São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado de São Paulo.* 106p. 2009.
- 52.TELLES, DM. Incidência de lesões cervicais não cariosas em estudantes de odontologia e sua relação com aspectos oclusais [Tese]. Bauru., Faculdade de Odontologia de Bauru; 2000.
- 53.FERREIRA FV, PIOVESAN C, PRATZEL JR, ARDENGHI TM. Aspectos clínicos e epidemiológicos da erosão dental na dentição permanente: revisão de literatura. *Int J Dent.* 2009. Abr/ jun; 8(2):87-93.
- 54.BARDSLEY PF. The evolution of tooth wear indices. *Clin Oral Invest.* 2008; 12 Suppl1:S15-S19.
- 55.LUSSI A. dental erosion clinical diagnosis and case history taking. *Eur J Oral Sci.* 1996. 104(2):191-198.
- 56.GANSS C. How valid are current diagnostic criteria for dental erosion? *Clin Oral Invest.* 2008; 12 Suppl 1:S41-S49.

57. MILOSEVIC A. The problem with an epidemiological index for dental erosion. *British Dental Journal*. 2011; 211:201-203.
58. YOUNG A, AMAECHI BT, DUGMORE C, HOLBROOK P, NUNN J, SCHIFFNER U, LUSSI A, GANSS C. Current erosion indices-flawed or valid? Summary. *Clin Oral Invest*. 2008 Mar; 12 Suppl1:59-63.
59. HOLBROOK WP, GANSS C. Is diagnosing exposed dentine a suitable tool for grading erosive loss? *Clin Oral Invest*. 2008; 12 Suppl1:S33-S39.
60. BARTLETT D, GANSS C, LUSSI A. Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new score system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Invest*. 2008 mar; 12 Suppl1:65-68.
61. JAEGGI T, LUSSI A. Prevalence, Incidence and Distribution of Erosion. . In: Lussi A. *Dental Erosion: From diagnosis to therapy*. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(5):44–65.
62. KAIDONI JA. Tooth wear: the view of the anthropologist. *Clin Oral Invest* (2008) 12 (Suppl 1):S21–S26.
63. SIRIMAHARAJ V, MESSER LBM, MORGAN MV. Acidic diet and dental erosion among athletes. *Aust Dent J*. 2002; 47(3):228-236.
64. VENABLES MC, SHAW L, JEUKENDRUP AE, ROEDIG-PENMAN A, FINKE M, NEWCOMBE RG, PARRY J, SMITH AJ. Erosive effect of a new sports drink on dental enamel during exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2005; 37(1):39-44.
65. COOMBES JS. Sports drinks and dental. *The American Journal of Dentistry*. 2005; 18(2):101-104.
66. LUSSII A, JAEGGI T. Occupation and Sports. In: Lussi A. *Dental Erosion: From diagnosis to therapy*. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(7):106-111.
67. SABIO S, SABIO SS, NETO ER, OLIVEIRA SC. Controle dos Fatores Etiológicos Oclusais como Auxiliar nas Restaurações de Lesões Cervicais Não-Cariosas: Relato de um Caso Clínico. *Rev Assoc Maringaense Odont*. 1997 set-dez; 1(1).
68. FAOT F, CUSTÓDIO LG, MELO ACM, HERMANN C. BRUXISMO Parte II: Etiologia fisiopatologia, JILAPEO. 2008; 13 ed.; 01:39-44.
69. FAOT F, DEL BEL CURY AA, MELO ACM, HERMANN C. BRUXISMO Parte III: Meios Científicos e clínicos de diagnóstico e avaliação. JILAPEOEIOS CIENTÍFICOS E CLÍNICOS DE DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO. JILAPEO. 2008; 2 ed; 03:67-72.
70. PEGORARO LF, SCOLARO JM, TELLES D, PEGORARO TA. Noncarious cervical lesions in adults: Prevalence and occlusal aspects. *J Am Dent Assoc*. 2005; 136(12):1694-1700.

71. BARTLETT D. Intrinsic causes of erosion. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(8):119-149.
72. CORRÊA MCCSF. Efeitos do refluxo gastroesofágico na cavidade oral. Dissertação (Mestrado) – Botucatu. Universidade Paulista. 2007.
73. CORRÊA MCCSF, LERCO MM, HENRY MACA. Estudo de alterações na cavidade oral em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico. Arq Gastroenterol. 2008 abr-jun; 45(2):132-136.
74. HOLBROOK WP, FURUHOLM J, GUDMUNDSSON K, THEODÓRS A, MOURMAN JH. Gastric reflux is a significant causative factor of tooth erosion. J dent res. 2009; 88(5):422-426.
75. HELLWIG E, LUSSI A. Oral Hygiene Products and Acidic Medicines In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(7.3):112-118.
76. JONES RRH, CLEATON-JONES P. Depth and area of dental erosions, and dental caries, in bulimic women. J Dent Res. 1989 aug; 68(8):1275-1278.
77. POPOFF DAV, SANTA-ROSA TTA, PAULA ACF, BIONDI CMF, DOMINGOS MA, OLIVEIRASA. Bulimia: manifestações bucais e atenção odontológica. RGO. 2010 jul-set; 58(3):381-385.
78. GUEDES CC, BUSSADORI SK, MUTARELLI OS. Estudo das alterações bucais que auxiliam no diagnóstico da bulimia nervosa do tipo purgativo: revisão de literatura. Rev Pediatría Moderna. 2007 nov-dez; 43(6):303-308.
79. ARANHA AC, EDUARDO CP, CORDÁS TA. Eating Disorders Part I: Psychiatric Diagnosis and Dental Implications. The Journal of Contemporary Dental Practice. 2008 sep; 9(6):1-11.
80. ARAÚJO JJ. Avaliação da Prevalência de desgaste dentário em pacientes portadores de transtornos alimentares. Dissertação (Mestrado) Bauru: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. 205p. 2007.
81. JARVINEN VK, RYTOMAA II, HEINONEN OP. Risk factors in dental erosion. J Dent Res. 1991. Jun. 70 (6):942-947.
82. LUSSI A, JAEGGI T. Chemical factors. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(7.1.1):77-87.
83. TEN BRUGGEN-CATE HJ. Dental Erosion in Industry. Brit. J. Industr. Med. 1968. 25:249-266.
84. MALCOM D, PAUL E. Erosion of the teeth due to sulphuric acid in the battery industry. Brit. J. Industr. Med. 1961. 18:63-69.

85. WIEGAND A, ATTIN T. Occupational dental erosion from exposure to acids—a review. *Occupational Medicine* 2007 feb; 57:169-176.
86. JAEGGI T, GRÜNINGER A, LUSSI A. Restorative Therapy of Erosion. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2006; 20(13):200-214.
87. SERRA MC, MESSIAS DCF, TURSSI CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. *Braz Oral res*. 2009; 23 Spec Iss 1:49-55.
88. FEATHERSTONE DB, LUSSI A. Understanding the Chemistry of Dental Erosion. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2006; 20(6):66-76.
89. GANSS C, SCHLUETER N, HARDT M, VON HINCKELDEY J, KLIMEK J. Effects of toothbrushing on eroded dentine. *Eur J Oral Sci*. 2007. 115: 390-396.
90. BACHMANN L, ZECELL DM. Estrutura e composição do esmalte e dentina – Irradiação Laser e Tratamento térmico. Ed Livraria da Física. 2005. Cap 3 p50-184.
91. REIS AF, PEREIRA PNR, GIANNINI M. Sistemas Adesivos – Atualidades e perspectivas In: 25º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo 25º CIOSP 2007.
92. TEN CATE JM, FEATHERSTONE DB. Mechanistic Aspects of the Interactions Between Fluoride and Dental Enamel. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1991; 2(2):283-296.
93. ODA M, MATOS AB, LIBERTI EA. Morfologia da dentina tratada com substâncias dessensibilizantes: avaliação através de microscopia eletrônica de varredura. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1999 out-dez; 13(4)337-342.
94. FAN Y, SUN Z, MORADIAN-OLDAK J. Effect of fluoride on the Morphology of calcium phosphate crystals grown on acid-etched human enamel. *Caries Res*. 2009 apr; 43(2)132-136.
95. FEATHERSTONE JDB. Prevention and reversal of dental caries: role of low levels of fluoride. *Comm Dent Oral Epidemiol*. 1999. 27:31-40.
96. RIOS D, MAGALHÃES AC, POLO ROB, WIEGAND A, ATTIN T, BUZALAF MAR. Efficacy of high dosage fluoride dentifrice on enamel erosion subjected or not to abrasion *in situ/ex vivo*. *J Dent*. 2010 April; 38(4): 284–289.
97. CUNHA, WA Avaliação *in vitro* da efetividade do diamino fluoreto de prata e do fluoreto de sódio na inibição da erosão dental—Dissertação (Mestrado) São Paulo; SP. Faculdade de Odontologia da Universidade Cruzeiro do Sul. 2008.
98. GANSS C, KLIMEK J, STARCK C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Arch Oral Biol*. 2004 Nov; 49(11):931-5.

99. MAIO M, ZECELL DM. Interação do laser com tecidos biológicos. In: Maio M. Tratado de Medicina Estética. Ed1. São Paulo. Ed Roca. 2004; 2(51):939-951.
100. MALDONADO, EP Mecanismo de Interação Laser-Tecido. Apostila do Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia, 2002.
101. BACHMANN L, GOMES ASL, ZECELL DM. Bound Energy of water in hard dental tissues. Spectroscopy Letters. 2004. 37(6):565-579.
102. HSU J, FOX JL, HIGUCHI WI, OTSUKAL M, YU D, POWELL GL. Heat-treatment-induced Reduction in the Apparent Solubility of Human Dental Enamel. J Dent Res. 1994 dec; 73(12):1848-1853.
103. WHITE JM, FAGAN MC, GOODIS HE. Intrapulpal temperatures during pulsed Nd:YAG laser treatment of dentin, in vitro. J Periodontol. 1994 Mar; 65(3):255-259.
104. ODA M, OLIVEIRA DC, LIBERTI EA. Avaliação Morfológica da união entre adesivo / resina composta e dentina irradiada com laser Er:Yag e laser Nd:YAG: estudo comparativo por microscopia de varredura. Pesq Odont Bras. 2001 out/dez; 15(4):283-289.
105. BIRANG R, YAGHINI J. Comparative Evaluation of dentine surface changes following Nd:YAG laser irradiation by SEM. Dent Res J. 2006. 3(2):1-7.
106. GLAUCHE CEC. O Laser de Nd:YAG associado a soluções de sais metálicos no tratamento da hipersensibilidade dentinária. Dissertação (Mestrado). São Paulo. SP. 2001.
107. HSUL YS, JORDAN TH, DEDERICH DN, WEFEL JS. Laser-Matrix-Fluoride Effects on Enamel Demineralization. J Dent Res. 2001; 80(9):1797-1801.
108. MAGALHÃES ACM, RIOS D, MACHADO MAAM, DA SILVA SMB, LIZARELLI RFZ, BAGNATO VS, BUZALAF MA. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion *in vitro*. Photomedicine and Laser Surgery. 2008;26(6):559-563.
109. ATTIN T. Methods for Assessment of Dental Erosion. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006; 20(10):152-172.
110. SCHLUTER N, HARA A, SHELLIS RP, GANSS C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. Caries Res. 2011; 45(Suppl 1):13-23.
111. KISHEN A, SHRESTHA A, RAFIQUE A. Fiber optic backscatter spectroscopy sensor to monitor enamel demineralization and remineralization *in vitro*. J Conserv Dent. 2008 apr/jun; 11(2):63-70.

112. BASHKATOV AN, GENINA EA, KOCHUBEY VI, TUCHIN VV. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm 2005. *J Phys D Appl. Phys.* 38: 2543-2555.
113. ZECELL DM, DE ROSSI W, BACHMANN L. Fundamentos da Física do Laser e Interação da Radiação Laser com tecido Biológico. In: Eduardo Fundamentos de Odontologia - Lasers em odontologia. Ed. Guanabara Koogan. RJ. 2010. (1):13-17.
114. ZECELL DM, RIBEIRO MS. Interação da luz laser com tecidos biológicos: aplicações. Apostila MPLO IPEN USP. Disciplina LO-03. 2010; p 65-71.
115. HALL A, GIRKIN JM. A Review of Potencial New Diagnostic Modalities for Caries Lesions. *J Dent Res.* 2004. 83(Spec Iss C):c89-C94).
116. BACHMANN L, ZECELL DM. Estrutura e composição do esmalte e dentina – Irradiação Laser e Tratamento térmico. Ed Livraria da Física. 2005. Cap 4 p185-238.
117. KIENLE A, MICHELS R, HIBST R. Magnification—a New Look at a Long-known Optical Property of Dentin. *J Dent Res.* 2006. 85(10):955-959.
118. KARLSSON L. Caries detection methods based on changes in optical properties between healthy and carious tissue. *Int J Dent.* 2010:270729. E pub 2010 Mar 28
119. LUSSI A, IMWINKELRIED S, PITTS NB, LONGBOTTOM C, REICH E. Performance and Reproducibility of a Laser Fluorescence System for Detection of Occlusal Caries in vitro. *Caries Res.* 1999. 33:261-266.
120. RODRIGUES JA. Novas tecnologias para detecção de lesões de cárie oclusal. Dissertação (Mestrado) faculdade de Odontologia da Universidade Paulista. Araraquara. SP. 2005.
121. KOZLOWSKI FC, KOZLOWSKI JR VA. Laser Fuorescente (DIAGNOdent) como diagnóstico da cárie dentária. *Biol Healthy Scie.* 2001. 7(1):47-51.
122. PRETTY IA. Caries detection and diagnosis: novel Technologies. *Journal of Dentistry.* 2006. 34:727-739.
123. CHUNG S, FRIED D, STANINEE M, DARLING CL. Multispectral near-IR reflectance and transillumination imaging of teeth. *Biomed Opt Exp.* 2011. Sep; 2(10).
124. DARLING CL, FRIED D. Nondestructive assessment of dentin demineralization using polarization sensitive optical coherence tomography after exposure to fluoride and laser irradiation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009 August; 90(2): 802–812.
125. Colston BW, Sathyam US, DaSilva LB, Everett MJ. Dental OCT. *Optics Express.* 1998 sep; 3(6):230-238.
126. SILVA DFT, N'NUÑEZ SC, SUZUKI LC, RIBEIRO MS, Dosimetria na Terapia com Laser em Baixa Intensidade In: Lasers em Odontologia cap 3 p 26-35.



127. RAELE MP. Desenvolvimento de um sistema de Tomografia por Coerência óptica no domínio de Fourier sensível à polarização e sua utilização na determinação das matrizes de Mueller. Dissertação (Mestrado). IPEN. São Paulo. 2009.
128. FREITAS AZ, ZECELL DM, VIEIRA JR NDR, RIBEIRO AC, GOMES SL. Imaging carious human dental tissue with optical coherence tomography. *Journal of Applied Physics*. 2006; 99(2):024906-024906-6.
129. WILDER-SMITH C, WILDER-SMITH P, KAWAKAMI-WONG H, VORONETS J, OSANN K, LUSSI A. Quantification of dental erosions in patients with GERD using Optical Coherence Tomography before and after double-blind, randomized treatment with esomeprazol or placebo. *The American Journal of Gastroenterology*. 2009. 104:2788-2795.
130. FREEBOY M. Ophthalmic Lasers expand from surgery to detection and diagnosis. *Biophotonics*. Jul/ago 2011; 28-30.
131. LIANG R, WONG V, MARCUS M, BURNS P, MCLAUGHLIN P. Multimodal imaging system for dental caries detection. *Proc. SPIE Vol. 6425, Lasers in Dentistry XIII*, 642502, 2007.
132. 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.
133. NETO FCR, TURSSI CP, SERRA MC. Erosion-like lesions progression in human and bovine enamel. *Int J Dent*. 2010 jan-mar; 9(1):16-20.
134. REEVES GW, FITCHIE JG, HEMBREE JR JH, PUCKETT AD. Microleakage of new dentin bonding systems using human and bovine teeth. *Oper Dent*. 1995 nov-dec; 20(6):230-5.
135. REIS AF, GIANNINI M, KAVAGUCHI A, SOARES CJ, LINE SR. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent*. 2004; 6(2):117-21.
136. FONSECA RB, HAITER-NETO F, CARLO HL, SOARES CJ, SINHORETI MA, PUPPIN-RONTANI RM, CORRER-SOBRINHO L. Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine teeth age. *Arch Oral Biol*. 2008 Nov; 53(11):1023-1029.
137. RAMALHO KM. Prevenção da erosão em esmalte dental irradiado com laser CO<sub>2</sub>: estudo *in situ*. Tese (Doutorado) São Paulo. SP. 131 p. 2010.
138. LUSSI A, SCHLUETER N, RAKHMATULLINA E, GANSS C. Dental erosion – an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Research*. 2011; 45 Suppl1:2-12.

139. HARA AT, LUSSI A, ZERO DT. Biological Factors. In: Lussi A, Dental Erosion: From diagnosis to therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. 2006;20(7.1.2):88-99.
140. ZANDIM DL, GILIO C, ROSSA JR C, SAMPAIO JEC. Influência de Bebidas Isotônicas na remoção de *smear layer* de superfícies radiculares após raspagem. Estudo in vitro. Rev Odont UNESP. 2008; 37(3):267-273).
141. JORDÃO MC. Efeito da Irradiação dos lasers de CO<sub>2</sub> e Nd:YAG associados ou não ao fluoreto sobre dentina e esmalte hígidos e erodidos quando submetidos a erosão in vitro. Dissertação (Mestrado). Bauru. São Paulo. 2001.
142. MAEDA FA. Uso dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG no controle da progressão de lesões erosivas em dentina radicular. Dissertação (Mestrado). Ribeirão Preto. São Paulo. 2009.
143. LUSSI A, MEGERT B, EGGENBERGER D, JAEGGI T. Impact of different toothpaste on the prevention of erosion. Caries Res. 2008. 41:77-79.
144. GASPRIC B, SKALERIC U. Morphology, chemical structure and diffusion processes of root surface after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation. J Clin Periodontol. 2001. 28(6): 508-516.
145. HSU CY, JORDAN TH, DEDERICH DN, WEFEL JS. Effects of low energy CO<sub>2</sub> laser irradiation and the orgânica matrix on inhibition of enamel demineralization. J Dent Res. 2000.79(9):1725-30.
146. ZECELL DM, DA ANA PA, RIBEIRO AC, BACHMANN L, FREITAS AZ, VIEIRA JR ND. Lasers in caries diagnosis and prevention. International Journal of Applied Eletromagnetics and Mechanics. 2005.21:1-7.
147. AZEVEDO CS, TRUNG LCE, SIMIONATO MRL, FREITAS AZ, MATOS, AB. Evaluation of caries-affected dentin with optical coherence tomography. Braz Oral Res. 2011 Sep-Oct; 25(5):407-13.
148. MANESH SK, DARLING CL, FRIED D. Imaging natural and artificial demineralization on dentin surfaces with polarization sensitive optical coherence tomography. Proc Soc Photo Opt Instrum Eng. 2008. Jan; 6843: 68430M.
149. MANESH SK, DARLING CL, FRIED D. Nondestructive assessment of dentin demineralization using polarization sensitive optical coherence tomography after exposure to fluoride and laser irradiation J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009 August; 90(2): 802–812.