



Universidade Federal do ABC

Curso de Pós-graduação em Engenharia Biomédica

Dissertação de Mestrado

DAÍSA DE LIMA PEREIRA

**USO DE TÉCNICAS ÓPTICAS NO MONITORAMENTO DOS EFEITOS
DO LASER DE Nd:YAG SOBRE A EROSÃO DENTÁRIA**

Santo André – SP

2014

Curso de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

Dissertação de Mestrado

Daísa de Lima Pereira

**USO DE TÉCNICAS ÓPTICAS NO MONITORAMENTO DOS EFEITOS
DO LASER DE Nd:YAG SOBRE A EROSÃO DENTÁRIA**

**Trabalho apresentado como requisito
parcial para obtenção do título de
Mestre em Engenharia Biomédica, sob
orientação da Professora Doutora
Patricia Aparecida da Ana.**

Santo André – SP

2014



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal do ABC
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica
 Rua Apolônio, s/nº – Vila São Pedro – Santo André – SP
 CEP 09210-180 - Fone: (11) 4996-0017
 ppgebm@ufabc.edu.br

FOLHA DE ASSINATURAS

Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Daísa de Lima Pereira, realizada em 15 de setembro de 2014:

Prof.(a) Dr.(a) **Patricia Aparecida da Ana** (UFABC) – Presidente

Prof.(a) Dr.(a) **Ricardo Scarparo Navarro** (UNICASTELO) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Ana Cecília Corrêa Aranha** (USP) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Denise Maria Zezell** (CNEN) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Sérgio Brossi Botti** (USP) – Membro Suplente

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca no dia da defesa, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

Santo André, 12 de dezembro de 2014.

Assinatura do autor: _____

Assinatura do orientador: _____

Dedicatória

A Deus, por permitir que tudo acontecesse da melhor forma possível.

Aos meus pais Moisa e Dalva, pela educação e criação que me proporcionaram, pelo estímulo e incentivo aos estudos que fizeram com que eu concluíssem este passo. Sou grata pelo carinho, atenção e dedicação que sempre me deram. Foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

À minha avó Alice, que sempre me apoiou em todos os momentos da vida e até hoje me incentiva a seguir as minhas escolhas e sonhos.

Ao meu marido Julio, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos em várias fases da minha vida. Por ser tão compreensivo com as minhas escolhas, ser meu melhor amigo, meu amor, meu companheiro, meu fiel escudeiro da vida toda. Obrigada por me ajudar a conquistar mais um degrau!

Ao meu filhinho de quatro patas Frotinha que do jeitinho dele está sempre ao meu lado e me dando todo o carinho e atenção.

Agradecimentos especiais

À **Profª Patricia A. da Anap** por ter aceitado me orientar e que sempre foi muito atenciosa e paciente comigo, me ensinou teorias, práticas, princípios, etc. Foi e sempre será muito importante na minha formação.

Ao **Prof. Emery C. C. C. Lins** que me auxiliou ao longo da pesquisa e sempre que precisei foi muito solícito.

Ao Prof. **Anderson Z. de Freitas** por ter me recebido no IPEN e ter me ensinado a fazer medidas e processamento de imagens no OCT e por todo o seu apoio no meu projeto.

À **Prof. Denise M. Zezell** por ter disponibilizado seu laboratório (CLA-IPEN) para que eu pudesse utilizar e por auxiliar na análise dos resultados deste trabalho.

Agradecimentos

À **Prof. Ana Cecília Corrêa Aranhado L.E.L.O** por ter permitido o uso do equipamento laser.

Ao **Prof. Sérgio Brossi Botta** pelas contribuições e sugestões no exame de qualificação.

Ao **Prof. Ricardo Scarparo Navarropela** sua contribuição no exame de qualificação.

Ao **Prof. Nasser Ali Daghastanli** por ter me auxiliado desde a graduação e também pela sua contribuição em meu exame de qualificação.

À **Prof. Juliana Kelmi Macário de Faria Daguano** pelo auxílio no uso do equipamento Microscopia Eletrônica de Varredura e por disponibilizar algumas amostras para o uso nas medidas de fluorescência.

Ao **Prof. Wendel Andrade Alves** por ter sido meu orientador na iniciação científica e por ter me apresentado o mundo da ciência.

Aos colegas **Adriane** e **Flávio** pela companhia e ajuda no laboratório e experimentos.

À **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)** e ao **Centro de Lasers e Aplicações (CLA)** por disponibilizar equipamentos e espaço físico para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório didático do curso de Engenharia Biomédica da UFABC, por todo o auxílio prestado durante o período deste trabalho.

À UFABC pela infraestrutura disponibilizada.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

À todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino.”

Leonardo da Vinci

USO DE TÉCNICAS ÓPTICAS NO MONITORAMENTO DOS EFEITOS DO LASER DE Nd:YAG SOBRE A EROÇÃO DENTÁRIA

Daísa de Lima Pereira

RESUMO

As lesões de erosão e abrasão em superfícies dentinárias apresentaram sua prevalência aumentada nos últimos anos, o que evidencia a necessidade de estratégias preventivas e do desenvolvimento de um método de diagnóstico precoce destas lesões. Desta maneira, a Biofotônica tem muito a contribuir neste aspecto. Este estudo objetivou verificar a possibilidade de diagnóstico inicial e de monitoramento da progressão da erosão e abrasão dentinárias por meio de técnicas ópticas, empregando-se um sistema de tomografia por coerência óptica (OCT) e um sistema de imagens por fluorescência (SIF), assim como avaliar o potencial do laser de Nd:YAG, quando associado ou não à aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA), na prevenção da perda estrutural promovida pela erosão e abrasão da dentina.

Para tal, foi realizado um estudo *in vitro* em que foram preparados 192 blocos de dentina radicular bovina, os quais foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos experimentais (n = 48): G1- sem tratamento; G2- tratamento com flúor fosfato acidulado (FFA, 1,23% F⁻, pH = 3,3 – 3,9); G3- irradiação com laser de Nd:YAG (1064 nm, 0,6 W, 10 Hz, 84,9 J/cm²); G4- aplicação de FFA, seguida de irradiação com laser de Nd:YAG. Após os tratamentos, as amostras foram submetidas a um modelo de desafio de erosão e abrasão por escovação durante 15 dias, sendo avaliadas por OCT e SIF em 5 momentos distintos: antes e após os tratamentos, e após 5, 10 e 15 dias de desafio. A avaliação morfológica superficial foi efetuada empregando-se microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Por meio da técnica de OCT, observou-se o desenvolvimento de lesões de erosão/abrasão de $9,8 \pm 2,9$ μm de profundidade em apenas 5 dias de desafio nas amostras sem tratamento, enquanto que as amostras irradiadas apresentaram lesões com profundidade média de $6,0 \pm 2,7$ μm . Em todo o período, observou-se que a irradiação com laser reduziu significativamente ($p = 0,00$) o desenvolvimento da erosão dentinária, totalizando área média de lesão de $14265,7 \pm 11989,0$ μm^2 , enquanto que o grupo sem tratamento apresentou área de $34111,5 \pm 9269,8$ μm^2 . A

aplicação de FFA não modificou significativamente ($p > 0,05$) a área ou profundidade das lesões formadas em nenhum dos tempos de desafio. Foram detectadas alterações na fluorescência da dentina decorrentes dos tratamentos e do desafio empregado, sendo relacionadas principalmente à formação da camada de esfregaço decorrente da escovação sobre a dentina, a qual foi evidenciada também nas análises por MEV.

A irradiação com laser isoladamente promoveu fusão e ressolidificação da superfície, enquanto se observou discreta ablação e exposição de túbulos dentinários quando associado à aplicação de FFA. Desta maneira, foi possível concluir que a técnica de OCT possibilita o diagnóstico precoce e o monitoramento tanto das áreas quanto da profundidade das lesões de erosão e abrasão formadas na dentina, enquanto que a técnica de SIF permite a detecção das modificações químicas oriundas deste processo, tais como a formação da camada de esfregaço. Ainda assim, pode-se concluir que a irradiação da dentina com laser de Nd:YAG promove redução da progressão das lesões de erosão na dentina, e a associação com FFA não apresenta nenhum efeito sobre este processo.

Palavras-chave: dentina, erosão, abrasão, OCT, fluorescência, laser

OPTICAL TECHNIQUES FOR MONITORING THE Nd:YAG LASER EFFECTS ON DENTAL EROSION

Daísa de Lima Pereira

ABSTRACT

Last years showed an increase in the prevalence of erosion and abrasion lesions on dentin surfaces, highlighting even more the need for preventive strategies and development of early diagnosis methods. Several biophotonic methods could be of great utility for this application. This work has two main objectives. The first one is to evaluate the potential of two optical techniques for initial diagnosis and monitoring of dentin abrasion and erosion, using an Optical Coherence Tomography system (OCT) and a fluorescence imaging system (FIS). The second objective is to characterize the effect of the Nd:YAG laser, with or without topical application of acidulated phosphate fluoride (APF), for prevention of structural loss by erosion and abrasion of the dentin.

An *in vitro* study involved 192 blocks of bovine root dentine, which were randomly distributed in four experimental groups (n = 48): G1 without treatment; G2 treatment with acidulated phosphate fluoride (APF, F 1.23%, pH = 3.3 to 3.9); G3 irradiation with Nd: YAG laser (1064 nm, 0.6 W, 10 Hz, 84.9 J / cm²); G4 application of APF followed by irradiation with Nd:YAG laser. After these protocols, all samples were subjected to a model of erosion and abrasion brushing for 15 days, then evaluated by OCT and FIS at 5 different time points: before treatment, after treatment, after 5, 10 and 15 days of erosion/abrasion. Morphological evaluation of the surface was performed using scanning electron microscopy (SEM).

After 5 days of erosion/abrasion, the depth of the lesions on untreated samples was measured at 9.8 ± 2.9 microns using OCT, while the irradiated samples (G3) showed an average depth of 6.0 ± 2.7 microns. Throughout the period, it was observed that the laser irradiation significantly reduced the development of dentine erosion ($p = 0.00$): the average total lesion area was $14265.7 \pm 11989.0 \mu\text{m}^2$, while the untreated group had an average total area of $34111.5 \pm 9269.8 \mu\text{m}^2$. The application of APF did not significantly modify the area nor the depth of the lesions

formed at any of the time points ($p > 0.05$). Dentin fluorescence was modified by the treatments and the erosion/abrasion protocol due to the creation of smear layer by brushing on dentin, which was also showed by SEM analysis.

Laser irradiation alone promoted melting and re-solidification of the surface, while discrete ablation and exposure of dentinal tubules appeared when laser irradiation was associated with APF application. This study has shown that OCT allows early diagnosis and monitoring of the area as well as the depth of dentin lesions, while FIS is able to detect chemical modifications such as the formation of a smear layer. Furthermore, it can be concluded that dentin irradiation by Nd:YAG laser decreases the erosion process of dentin lesions, while the use of APF has no effect on this process.

Keywords: dentine, erosion, abrasion, fluorescence, laser

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	OBJETIVOS	20
3.	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	<i>Erosão Dentária</i>	21
2.1.1.	<i>Definição e Etiologia</i>	21
2.1.2.	<i>Aspectos químicos e físicos da erosão dentária</i>	22
2.1.3.	<i>Diagnóstico da erosão dentária</i>	23
2.1.4.	<i>Controle e prevenção da erosão dentária</i>	24
2.2	<i>Laser na prevenção da erosão dental</i>	25
2.3	<i>Tomografia por Coerência Óptica- OCT</i>	26
2.4	<i>Sistema de Imagens de Fluorescência- SIF</i>	28
3.	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1.	<i>Delineamento experimental</i>	32
3.2.	<i>Preparo das amostras</i>	34
3.3.	<i>Tratamentos das amostras</i>	36
3.3.1.	<i>Aplicação de FFA nas amostras</i>	36
3.4.	<i>Irradiação das amostras</i>	36
3.5.	<i>Desafio de erosão e abrasão</i>	38
3.6.	<i>Avaliação por OCT</i>	40
3.7.	<i>Avaliação por fluorescência (SIF)</i>	43
3.8.	<i>Avaliação por microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	45
3.9.	<i>Análise Estatística</i>	45
4.	RESULTADOS	47
4.1.	<i>Análise por OCT</i>	47
4.1.1.	<i>Análise por OCT- Profundidade média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tratamento”</i>	49
4.1.2.	<i>Análise por OCT- Profundidade média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tempo de ciclagem”</i>	56
4.1.3.	<i>Análise por OCT- Área média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tratamento”</i>	61
4.1.4.	<i>Análise por OCT- Área média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tempo de ciclagem”</i>	70
4.2.	<i>Análise por SIF</i>	79
4.2.1.	<i>Análise por SIF- Intensidade da fluorescência com fator de variação “tratamento”</i>	83
4.2.2.	<i>Análise por SIF- Intensidade da fluorescência com fator de variação “tempo de ciclagem”</i>	92

4.3.	<i>Análise morfológica</i>	102
5.	DISCUSSÃO	107
6.	CONCLUSÕES	112
7.	APÊNDICES	113
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

1. INTRODUÇÃO

As doenças que envolvem os tecidos duros da cavidade oral ainda são bastante prevalentes, mesmo de etiologia, formas de tratamento e prevenção conhecidos. Assim se demonstra a necessidade de se continuar a busca por novos métodos, principalmente aqueles destinados à prevenção, em larga escala, do surgimento das doenças.

Dentre as lesões que mais acometem os dentes, encontra-se em primeiro lugar, a cárie dental e, posteriormente, as lesões resultantes de fenômenos de desgaste dentário decorrente de desmineralização tais como a erosão, a abrasão e a abfração². Considerando o importante e significativo declínio na incidência de lesões de cárie nos países em desenvolvimento³, como é o caso do Brasil, tem sido dada atenção para a prevenção do surgimento da erosão, lesão que teve sua prevalência fortemente aumentada devido ao estilo de vida das pessoas que está mudando constantemente⁴.

A erosão dentária tem atraído cada vez mais a atenção dos pesquisadores porque é um fator de risco para o dano ou perda do elemento dentário. Devido ao estilo de vida das pessoas que vivem principalmente nos países industrializados, os hábitos alimentares têm mudado significativamente, sendo observado o aumento expressivo da exposição dos dentes a diferentes tipos de ácidos. Como consequência, a prevalência das lesões de erosão de esmalte ou de dentina tem aumentado^{5; 6; 7}.

A etiologia da erosão dentária está relacionada à ingestão demasiada de bebidas ácidas (refrigerantes, isotônicos)⁴, assim como a refluxos gástricos⁸, desordens alimentares (regurgitação, alcoolismo, bulimia), ocupacional (inalação de vapores ácidos). O aumento da prevalência de lesões de erosão na superfície radicular também pode estar relacionada à presença, por maior período de tempo, dos dentes na cavidade oral, proporcionada pelo aumento da expectativa de vida e melhoria das condições de higiene oral dos indivíduos⁹.

A perda de esmalte dental devido à erosão é prevalente nos países industrializados, principalmente entre as crianças e adolescentes, o que está intimamente relacionado aos seus hábitos alimentares¹⁰. Segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), no Brasil, o consumo de refrigerante *per capita* nos anos 2002-2003¹¹ foi de 21g/dia e nos anos 2008-2009¹² foi de

aproximadamente 95 g/dia. A partir desses dados, pode-se observar que houve um aumento muito expressivo no consumo de refrigerantes, aproximadamente 452% em 6 anos. A expectativa de vida no Brasil aumentou 17,9% entre os anos 1980 e 2013 passando de 62,7 para 73,9 anos, segundo relatório da ONU (Organização das Nações Unidas) de 2013¹³. Com o avanço da idade pode ocorrer a recessão gengival, o que acarreta a exposição dentinária radicular e, desta maneira, eleva-se o risco de desenvolver uma lesão de erosão nesta superfície exposta.

Os estágios iniciais do processo de erosão dentinária são bastante semelhantes com o que ocorre no esmalte. Ou seja, ocorre uma corrosão química consequente de um ataque ácido e camadas ultrafinas de esmalte ou dentina são removidas¹⁴. Entretanto, depois desses estágios iniciais de desmineralização, ocorre a exposição da matriz de colágeno da dentina. Essa matriz mais espessa retarda o processo de perda mineral por erosão porque os componentes orgânicos atuam como uma barreira de difusão. Dessa forma, pode-se concluir que o processo de erosão na dentina é controlado pela difusão enquanto no esmalte é um fenômeno predominantemente de superfície¹⁵. A camada de colágeno exposta pode ser afetada por enzimas, degradação química e também por abrasão.¹⁶ A abrasão dentária é definida como um desgaste que ocorre em consequência de ação mecânica envolvendo substâncias ou objetos entre as superfícies dentárias. Desta forma, a escovação dentária tem sido referida como a principal e mais importante causa de abrasão^{17; 18}.

A interação entre erosão ácida e abrasão é um dos principais fatores causadores de desgaste dental¹⁹. Considerando que as pessoas normalmente escovam seus dentes logo após as refeições e que, nestas, pode estar incluída a ingestão de comidas e bebidas com potencial erosivo,¹⁸ é importante que sejam estudados esses dois processos em conjunto. Estudos demonstram que o esmalte erodido é mais susceptível à abrasão, assim tem-se relação direta entre erosão e abrasão^{20; 21}.

Até o momento, não é possível prevenir ou mesmo paralisar a progressão da perda mineral causada pela erosão ácida²². Produtos de aplicação tópica estão em constante desenvolvimento para prevenção do surgimento das lesões de erosão²³, baseados principalmente em fluoreto, o principal e mais bem sucedido agente empregado para prevenção e paralisação de lesões de cárie²³. Contudo, o tratamento de escolha ainda é a restauração das lesões já estabelecidas e a

orientação do paciente quanto aos cuidados a serem seguidos com a dieta e mudança de hábitos alimentares⁶.

A utilização dos lasers em alta intensidade tem se mostrado bastante promissora na prevenção do surgimento de lesões cariosas tanto em esmalte quanto em dentina, seja atuando isoladamente ou em associação com o fluoreto²⁴. Quando empregada de forma isolada, a irradiação com lasers em alta intensidade pode promover modificações morfológicas, químicas e estruturais na superfície dos tecidos duros dentais, reduzindo o conteúdo orgânico, removendo íons carbonato, água e propiciando a formação de novas fases cristalinas, com cristais de hidroxiapatita de tamanho aumentado²⁵. A literatura sugere, assim, que tais modificações sejam responsáveis pelo aumento na resistência do esmalte e da dentina irradiados à desmineralização²⁵. Ainda assim, a irradiação laser pode ser efetuada associando-se à aplicação tópica de fluoreto, sob a forma de gel, verniz ou dentifrício, o que promove também um prolongamento da atuação deste íon, o que reduz significativamente a perda mineral do esmalte quando submetido ao desafio cariogênico^{26;27; 28}. Ainda assim, a associação de terapias pode promover menor necessidade de reaplicação do agente fluoretado.

Os resultados promissores obtidos na utilização da irradiação *laser* para prevenção ou paralisação de lesões de cárie incipientes motivam as pesquisas que relacionam o uso desta tecnologia para prevenção do surgimento ou mesmo paralisação do processo de erosão ácida^{28; 29; 30; 31}. Estudos prévios com *lasers* de dióxido de carbono (CO₂)^{29; 30} e neodímio (Nd:YAG)^{28; 31} evidenciam o potencial da terapia *laser* para prevenção da erosão, principalmente por tratar-se de *lasers* que promovem altas temperaturas na superfície dos tecidos duros dentais e, devido a mudanças químicas e morfológicas induzidas (principalmente pela fusão do esmalte e da dentina)^{32; 33}, poderiam reduzir a difusão de ácidos, diminuindo a perda estrutural e seus efeitos deletérios. Porém, os resultados obtidos na literatura divergem quanto à demonstração da eficácia dos tratamentos propostos, principalmente quanto aos parâmetros *laser* empregados e suas associações com fluoreto sob diversas formas (vernizes, géis ou dentifrícios). Nos trabalhos com *laser* de CO₂^{29; 30} foi mostrado que quando a dentina é irradiada com o mesmo, o efeito preventivo de lesões de erosão não foi confirmado, porém quando associado ao TiF₄, pode potencializar a ação do FFA. Já nos trabalhos com o *laser* de Nd:YAG^{28; 31; 34; 35}, a densidade de energia utilizada foi de 35 à 70J/cm² e é possível verificar

que este *laser* age em sinergia com o FFA e também foi mostrado que o FFA em forma de gel previne melhor as lesões de erosão do que o FFA em forma de verniz.

Os resultados promissores obtidos com o *laser* de Nd:YAG na inibição da formação de lesões de cárie motivam o seu emprego também como agente inibidor da lesão de erosão ácida. Embora haja trabalhos na literatura que empregam este comprimento de onda para prevenção das lesões de erosão em dentina, os resultados apresentam-se ainda contraditórios^{28; 31; 34; 35}, o que requer a realização de novos estudos principalmente que associem os fenômenos de erosão e abrasão, buscando-se uma maior aproximação para a realidade clínica. Ainda assim, parâmetros efetivos devem ser testados para tal fim, associando-se ou não a aplicação de fluoreto, o que motivou a realização deste trabalho.

Observa-se, portanto, que os métodos fotônicos, tais como a irradiação *laser*, podem ser promissores na prevenção de lesões de erosão. Ainda assim, técnicas fotônicas também têm se mostrado com grande potencial para diagnóstico das lesões incipientes. A literatura relata grande dificuldade no diagnóstico clínico das lesões iniciais de erosão porque são alterações que não podem ser vistas a olho nu e, em seu estágio inicial, são acompanhadas de poucos sinais e sintomas^{6; 36; 37}.

Para avaliar a desmineralização e alterações nas propriedades ópticas da dentina radicular causadas pelo processo de erosão ácida e também pela ação do *laser* de Nd:YAG foram utilizadas as técnicas ópticas que facilitam a detecção de lesões principalmente em suas fases iniciais quando os profissionais de odontologia têm dificuldade em fazer o diagnóstico sem o uso de métodos ópticos e com o uso dos instrumentais adequados. As técnicas utilizadas foram tomografia por coerência óptica (OCT- Optical Coherence Tomography) e também de fluorescência por meio do sistema de imagens de fluorescência (SIF), que são técnicas que podem ser utilizadas em consultório, não destrutivas e que não utilizam radiação ionizante.

A motivação deste trabalho foi encontrar um método de prevenção de lesão de erosão mais duradouro do que os existentes atualmente e também um método de diagnóstico óptico que possibilitaria o diagnóstico precoce das lesões de erosão.

2. OBJETIVOS

Considerando os malefícios promovidos pela erosão e abrasão no ambiente oral, a dificuldade de prevenção e de paralisação de tais lesões, assim como a ausência de métodos que diagnostiquem esta lesão em seu estágio inicial, este estudo objetiva:

1 - avaliar a possibilidade de diagnóstico inicial de erosão dentinária por meio de técnicas ópticas, empregando-se a tomografia por coerência óptica (OCT) e o sistema de imagens de fluorescência (SIF);

2 - avaliar o potencial do *laser* de Nd:YAG, quando associado ou não à aplicação tópica de flúorfosfato acidulado, na prevenção da perda estrutural promovida pela erosão e abrasão.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Neste item procurou-se revisar a literatura com relação às técnicas de imagem utilizadas no trabalho como OCT e fluorescência, aos efeitos do *laser* de Nd:YAG no tecido duro dentina quanto à prevenção de erosão dental. E ainda, considerações a respeito da erosão dentária, etiologia e formas de prevenção utilizadas atualmente.

2.1 *Erosão Dentária*

Neste tópico serão feitas considerações sobre a erosão dentária como etiologia, diagnóstico e formas de prevenção.

2.1.1. *Definição e Etiologia*

A erosão dental é definida como a perda irreversível da superfície do esmalte ou dentina, com a desmineralização do tecido subjacente em decorrência do contato desses tecidos com ácidos de origem não bacteriana.³⁸ A lesão da erosão é localizada, em que apenas as regiões diretamente expostas ao ácido são afetadas. Quando a dentina é exposta, a superfície fica sensível aos estímulos frios, alimentos quentes e também estímulos táteis, causando incômodo³⁹.

Neste processo, o tecido mais comumente acometido é o esmalte. O ataque ácido no interior do ambiente oral leva à perda e ao amolecimento da superfície do esmalte, o que leva ao detrimento da sua resistência ao desgaste e torna-o mais susceptível aos efeitos da abrasão mecânica promovida pela escovação e fricção dos lábios, bochechas e língua⁴⁰. As consequências deste fenômeno são principalmente relacionadas à perda prematura do tecido dental, o que pode levar à hipersensibilidade dentinária, irritação do tecido pulpar e à necessidade de tratamentos restauradores cada vez mais complexos⁴¹, o que pode implicar em alto índice de falhas adesivas e encarecimento da terapia.

A etiologia da erosão ácida pode ser classificada de maneira simples, como pode ser visto abaixo³⁹:

- erosão causada por alimentos e bebidas (frutas cítricas, refrigerantes, isotônicos);

- erosão causada pelo ácido estomacal (regurgitação, vômito e desordens alimentares como bulimia);
- erosão ocupacional (inalação de vapores ácidos);
- erosão idiopática (causa desconhecida).

2.1.2. Aspectos químicos e físicos da erosão dentária

A erosão depende de fatores químicos como tipo de ácido, pH, acidez titulável, potencial quelante, concentração de cálcio, de fosfato e de FFA, assim como de fatores físicos como temperatura e adesividade.³⁸

Quando os ácidos presentes em bebidas erosivas entram em contato com a saliva, os mesmos são dissociados liberando íons hidrogênio (H^+)³⁸. Conseqüentemente, o pH do meio bucal fica abaixo dos pHs críticos de dissolução do esmalte e da dentina. Vale a pena ressaltar que o pH crítico do esmalte é 5,5 e da dentina é 6,5²³. Dessa forma, o meio torna-se subsaturado em relação aos íons cálcio e fosfato que compõem os cristais de apatita carbonatada, hidroxiapatita e apatita fluoretada, provocando a dissolução mineral da estrutura dental, o que se processa pela ligação do H^+ ao carbonato e/ou ao fosfato dos cristais de apatita.³⁸

Além do efeito ocasionado pelos íons H^+ , a erosão dental acontece também pela perda mineral desencadeada pela complexação do cálcio com ânions. Por exemplo, a propriedade quelante (capacidade de se complexar com o cálcio da estrutura dental ou da saliva) do ácido cítrico faz com que o ânion citrato se ligue ao cálcio presente no ambiente oral ocasionando a desmineralização mesmo em pH neutro. E ainda, o citrato causa uma depleção no cálcio da saliva diminuindo a sua supersaturação e eleva a perda mineral. Por causa do tamanho e forma tridimensional dessa molécula, é formado um complexo bastante estável com o cálcio. Assim, o ácido presente em bebidas que ocasiona maiores perdas minerais é o ácido cítrico.³⁸

O pH é o parâmetro mais utilizado para definir o potencial erosivo de uma bebida. Juntamente com a concentração de cálcio, fosfato e FFA, é determinado o grau de saturação de uma bebida comparando-se com a estrutura dental. Dessa forma, soluções supersaturadas em relação ao esmalte e dentina não promovem dissolução mineral.³⁸

Acidez titulável é a propriedade que a bebida tem de manter seu pH original estável. Bebidas com potencial erosivo como os refrigerantes e elevada acidez titulável mantêm o pH do meio oral ácido por um período maior de tempo, acarretando em maior dissolução dos minerais do esmalte e dentina.³⁸

Quanto aos aspectos físicos, a temperatura e adesão podem influenciar no processo de erosão dentária. A temperatura é um fator modulador no efeito erosivo de uma bebida, de tal forma que em temperatura ambiente, ou em altas temperaturas, a dissociação do ácido é termodinamicamente favorecida, aumentando a taxa de difusão dos elementos químicos através da superfície dental e, conseqüentemente, a taxa de desmineralização também é aumentada. A adesão de bebidas ácidas à estrutura dental pode se apresentar de diferentes formas de acordo com a composição química, maior tempo de aderência da bebida ao dente implica em risco aumentado de ocorrência do processo erosivo.³⁸

2.1.3. Diagnóstico da erosão dentária

O diagnóstico da erosão dentária atualmente é feito durante o exame clínico convencional, com o auxílio de luz branca, espelho e gaze. Além disso, a anamnese fornece informações imprescindíveis para o correto diagnóstico.

Na Tabela 1 são mostrados os itens que devem ser abordados durante a anamnese. Com a associação dos dados obtidos pela anamnese e exame clínico, pode-se eliminar fatores causais e implementar medidas preventivas e curativas.¹⁷

Tabela 1: Itens que devem ser abordados no questionário aplicado ao paciente. Adaptado.¹⁷

Condição	Presente (sim)	Ausente (não)
Problemas gástricos		
Anorexia/bulimia		
Consumo de vitamina C		
Natação		
Bruxismo/apertamento		
Trauma oclusal/contato prematuro		
Consumo de alimentos ácidos na mamadeira		
Consumo noturno de alimentos ácidos		
	Frequência	
Quantidade de escovações/dia	1 vez	2 a 3 vezes >3 vezes

Tempo de escovação (min)	<1	2 a 5	>5	
Consumo de refrigerantes	<1 vez/semana	2 a 3 vezes/semana	1 vez/dia	>1 vez/dia
Consumo de isotônicos	<1 vez/semana	2 a 3 vezes/semana	1 vez/dia	>1 vez/dia
Consumo de frutas ácidas	<1 vez/semana	2 a 3 vezes/semana	1 vez/dia	>1 vez/dia
Consumo de sucos de frutas	<1 vez/semana	2 a 3 vezes/semana	1 vez/dia	>1 vez/dia

Para o exame clínico, há índices que mensuram o desgaste dental observado, que pode ser resultante de erosão, abrasão, e abfração (fenômenos que podem ocorrer concomitantemente). Um dos índices mais utilizados é o *Toothwear index – TWI*, formado por uma escala de 5 pontos para avaliar o desgaste nas regiões cervical, vestibular, incisal, oclusal, palatina e lingual de todos os dentes (Tabela 2).⁴²

Tabela 2: Índice de desgaste dentário – TWI.⁴²

Índice de desgaste dentário – TWI
0- nenhuma perda de esmalte
1- perda de uma camada superficial do esmalte
2- perda de esmalte e exposição de um terço da dentina
3- exposição de mais de dois terços da dentina
4- exposição pulpar ou dentina secundária

O método diagnóstico utilizado atualmente permite o diagnóstico apenas quando a lesão de erosão já progrediu e se estabeleceu, quando já é difícil o processo de restauração da região.¹⁷

2.1.4. Controle e prevenção da erosão dentária

O principal método de prevenção e controle da erosão dentária é a eliminação ou moderação do agente etiológico⁴³. O paciente deve ser acompanhado por uma equipe multidisciplinar para o tratamento de desordens psicossomáticas e danos no tecido dental.

Para diminuir a frequência e severidade dos desafios erosivos, é feito o controle da dieta e da forma e condição de ingestão da bebida ácida. A quantidade de bebidas ácidas ingerida deve ser diminuída ou restringida, o paciente deve ser orientado a não bochechar esse tipo de bebida e também a controlar a temperatura de ingestão da mesma.

Para promover o aumento da resistência do tecido duro dental, é utilizado o FFA que se apresenta na forma de gel, verniz ou dentifrício como principal agente remineralizante, pois age na redução da solubilidade da superfície e consequente aumento da resistência superficial⁴³. A presença de FFA no ambiente oral diminui o valor do pH crítico, dificultando a dissolução do mineral. E ainda, embora a dissolução mineral não seja totalmente evitada, uma certa quantidade de cálcio e fosfato é reposta na forma de fluorapatita. Dessa forma, a presença de FFA no ambiente oral reduz a perda mineral, influenciando diretamente na desmineralização do tecido duro dental²³.

No entanto, é comprovado que após 48 horas da aplicação de FFA tópico, a taxa de CaF_2 no ambiente oral diminui até 10 vezes⁴⁴.

A prevenção é feita com outros agentes como: bicarbonato de sódio que por ser alcalino age como neutralizante do ácido do ambiente oral, é administrado na forma de solução aquosa para enxague bucal; gomas de mascar para estimular a salivagem para maximizar a sua capacidade remineralizadora, em casos de hipossalivação são recomendados substitutos salivares; e ainda, pode ser utilizada proteção mecânica do elemento dental exposto aos ácidos.⁴³

2.2 *Laserna prevenção da erosão dental*

Lasers de diferentes comprimentos de onda foram estudados com o objetivo de prevenir o desenvolvimento das lesões de cárie e foi mostrado que o *laser* pode reduzir a solubilidade dental⁴⁵. O *laser* em alta intensidade promove um efeito térmico localizado quando a sua irradiação é absorvida pelo tecido duro dental. Esse efeito provoca modificações químico-estruturais como formação de novas fases cristalográficas nos tecidos duros dentais que dependem da temperatura superficial atingida³³. A matriz orgânica do esmalte e da dentina é eliminada com temperaturas inferiores a 350°C; entretanto, a desnaturação de proteína é observada após a temperatura atingir os 45°C.³³ Os constituintes da matriz mineral são mais estáveis

termicamente. A eliminação de carbonato começa a ser observada após aquecimento a 100°C, sendo quase totalmente eliminado após aquecimento a 1100°C, temperatura onde ocorre a formação de novas estruturas cristalográficas, tais como fosfato de tricálcico na fase α e β e fosfato tetracálcico³³.

Esse aumento de temperatura gerado nos tecidos biológicos durante a irradiação vai depender de parâmetros ajustados do equipamento *laser*, tais como comprimento de onda de emissão, intensidade, potência pico, potência média, modo de emissão (contínuo ou pulsado), duração e largura do pulso, energia por pulso, taxa de repetição, densidade de energia (ou fluência), diâmetro do feixe e características espaciais do feixe, assim como das propriedades ópticas e térmicas do tecido.⁴⁶

Sabe-se que a associação *laser* e FFA é uma forma bem sucedida para prevenção de lesões de cárie, pois a irradiação *laser*, além de seus efeitos isolados sobre os tecidos duros dentais, pode prolongar os efeitos benéficos dos agentes fluoretados^{26; 47; 48; 49}. Os *lasers* de Nd:YAG são bastante acessíveis comercialmente, por meio da aplicação prévia de substância fotoabsorvedora, garante-se maior absorção dos fótons na superfície e promove-se aumentos de temperatura suficientes para gerar fusão e ressolidificação do esmalte e da dentina^{33; 50}. Desta forma, a literatura reporta a redução da hipersensibilidade dentinária⁵¹, além de promover superfícies mais resistentes à ação de ácidos²⁷. Estudos prévios também demonstram sinergia com o FFA, promovendo maior formação de fluoreto de cálcio e conferindo maior retenção deste⁵²; em estudos com erosão, demonstrou-se que a associação da irradiação *laser* com aplicação tópica de FFA fosfato acidulado promove menor desgaste erosivo quando comparado aos tratamentos isolados, o que sugere também um efeito sinérgico³¹.

Como pode ser visto, o *laser* Nd:YAG pode ser utilizado como método preventivo de erosão dentinária, no entanto ainda há a necessidade de determinar os parâmetros adequados para aplicação clínica.

2.3 Tomografia por Coerência Óptica- OCT

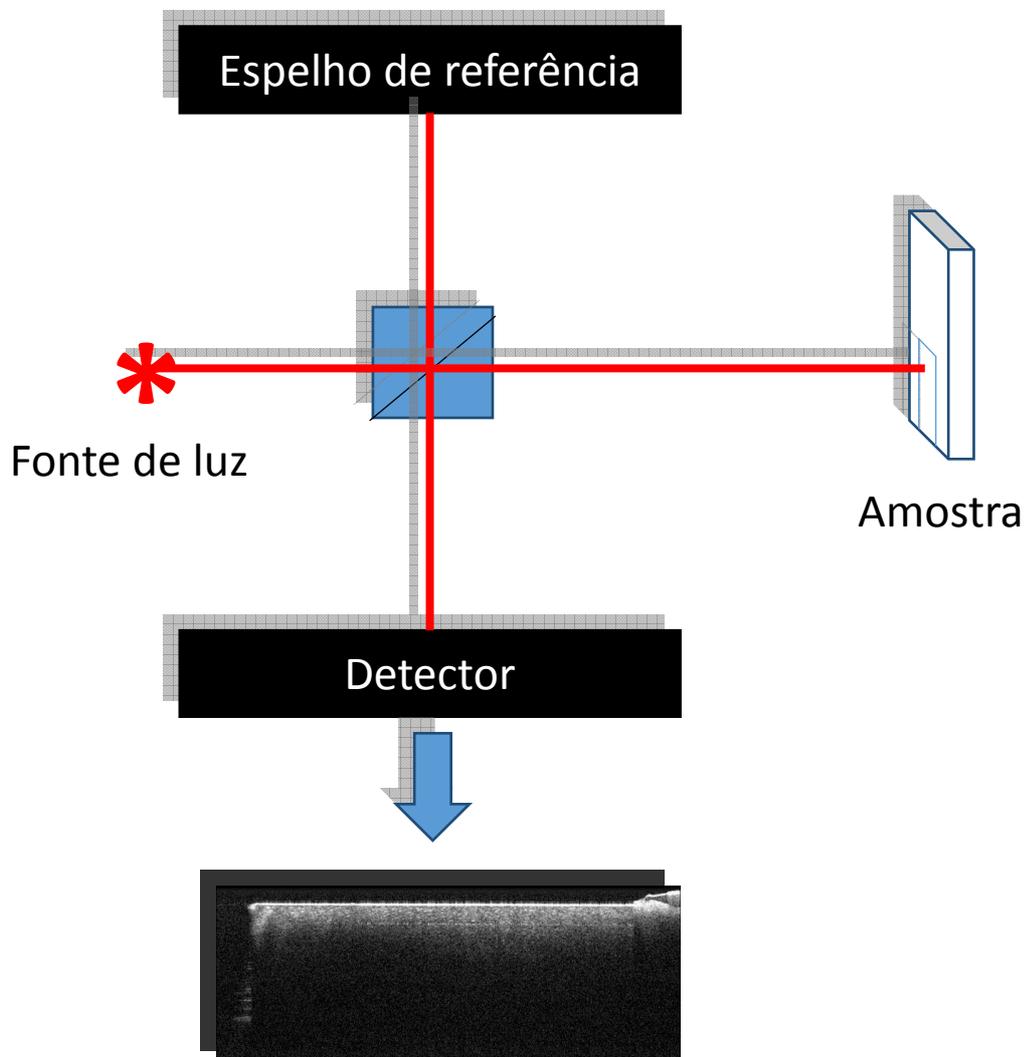
A técnica de OCT consiste no imageamento óptico de alta resolução axial e não destrutiva que fornece imagens transversais de estruturas biológicas⁵³. Esta técnica não requer contato com a amostra em análise, não utiliza radiação ionizante

e é não invasiva, o que possibilita a sua aplicação *in vivo* sem qualquer efeito colateral ao paciente⁵⁴. Há muitos estudos na área de saúde e agora também na Odontologia que demonstram a alta capacidade da técnica de OCT para o diagnóstico de cárie^{55; 56; 57} e poucos estudos visando o diagnóstico de erosão dentária^{58; 59}.

O sistema de OCT se baseia no interferômetro de Michelson, sendo empregada uma fonte de luz com grande largura espectral e de comprimento de onda próximo ao infravermelho, pois essa região do espectro é a que sofre menos absorção pelos principais componentes dos tecidos biológicos⁵³.

A luz emitida atravessa um elemento óptico que divide o feixe em duas partes iguais, uma parte é direcionada para o espelho do braço de referência do aparelho e a outra parte é direcionada para a amostra. A luz refletida do espelho presente no braço de referência e a luz retroespalhada da amostra são recombinadas no divisor de feixe, ocorrendo interferência entre elas, conforme pode ser observado na Figura 1. A intensidade do feixe recombinante é mensurada por um detector óptico, a qual é proporcional ao quadrado do campo elétrico resultante⁶⁰.

Figura 1: Ilustração esquemática de um arranjo OCT. A fonte ilumina os dois braços do interferômetro. A posição do espelho de referência determina



a profundidade a ser “observada” na amostra pelo tempo de vôo dos fótons. Junto ao detector, está ilustrada a formação de uma imagem OCT.

Sua primeira aplicação em Odontologia foi descrita em 1998⁶¹, para obtenção de imagens de tecidos moles e duros da cavidade oral, detecção de cáries, fraturas dentais, patologias de tecido mole e doenças periodontais. Estudos prévios da literatura demonstram alta capacidade da técnica de OCT para o diagnóstico de cárie^{55; 56; 57; 60; 62; 63}, contudo há poucos estudos visando o diagnóstico de erosão dentária^{34; 58; 59}.

O trabalho de Chew *et al.*⁵⁸ teve como objetivo avaliar a progressão da lesão de erosão em esmalte pelas técnicas de OCT e QLF (*Quantitative Light-induced Fluorescence*). O protocolo de desmineralização consistiu na imersão das amostras de esmalte dental humano em suco de laranja (pH 3,8±0,1) pelo tempo total de 60 minutos e eram lavadas e secas a cada 10 minutos para análise. Foi encontrada correlação entre os resultados obtidos pelo OCT e pelo QLF, no entanto, o QLF se mostrou um dispositivo melhor para diagnóstico do que o OCT.

O trabalho de Chan *et al.*⁵⁹ teve dois objetivos, o primeiro foi medir a espessura do esmalte utilizando PS-OCT e o segundo foi avaliar a resistência a erosão do esmalte dental após irradiação com *laser* CO₂. Amostras de esmalte bovino foram imersas em solução desmineralizadora (pH4,3) e também em suco de laranja (pH3,8) por até 48 horas. O *laser* inibiu o processo de erosão e foi observado que a hidratação da amostra pode prejudicar a análise com o PS-OCT.

Além de serem poucos os estudos que avaliam o processo de erosão dentária por OCT, estes em sua maioria avaliaram lesões em esmalte apenas e usam protocolos não clínicos de indução de erosão, tais como a imersão em suco de laranja por até 48 horas. Desta maneira, torna-se importante verificar o potencial desta técnica em avaliar um processo que simule as condições reais que ocorrem *in vivo* em tecido dentinário, o que ainda não foi verificado na literatura.

2.4 Sistema de Imagens de Fluorescência- SIF

O SIF é um sistema baseado no fenômeno da fluorescência. Este ocorre quando a amostra emite luz por conta da transição das moléculas de um estado excitado (o qual ocorre por absorção de fótons do meio) para o estado fundamental, como pode ser observado no diagrama de Jablonskii da Figura 2⁶⁴.

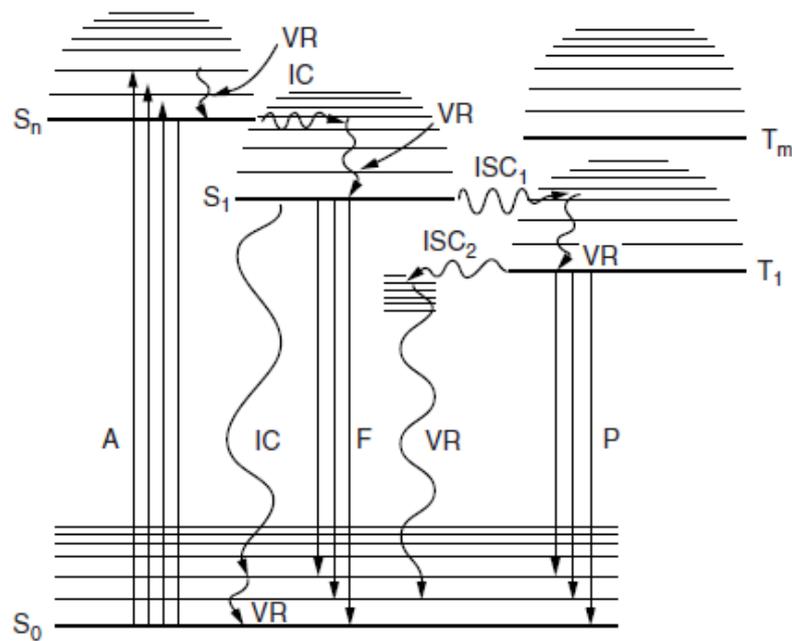


Figura 2: Diagrama de Jablonski mostrando as diferentes transições radioativas e não radioativas em uma molécula em um estado de excitação singleto, S_n:S₀=estado fundamental singleto; S₁=primeiro estado singleto de excitação; T₁=primeiro estado de excitação tripleto; T_m=estado tripleto excitado; ISC,ISC₁eISC₂=cruzamento intersistemas; A=absorção; F=fluorescência; IC=conversão interna; P=fosforescência; e VR=relaxamento vibracional. Adaptado.⁶⁴

Na análise da fluorescência de tecidos biológicos, a fonte luminosa de excitação geralmente está próxima do ultravioleta ou visível.⁶⁴

O SIF empregado no presente estudo é composto por filtros ópticos de banda larga (corte $\lambda=450$ nm), lente objetiva e roda de filtros controlada por computador, além de câmera CCD científica e sistema de iluminação para induzir fluorescência (diodos emissores de luz - LEDs - $\lambda=405$ nm e largura de banda de 30nm)⁶⁵. Tal sistema, embora desenvolvido para aplicações científicas em citricultura⁶⁵, pode ser aplicado no diagnóstico das desmineralizações do esmalte e da dentina, conforme demonstrado em estudos prévios^{66; 67}.

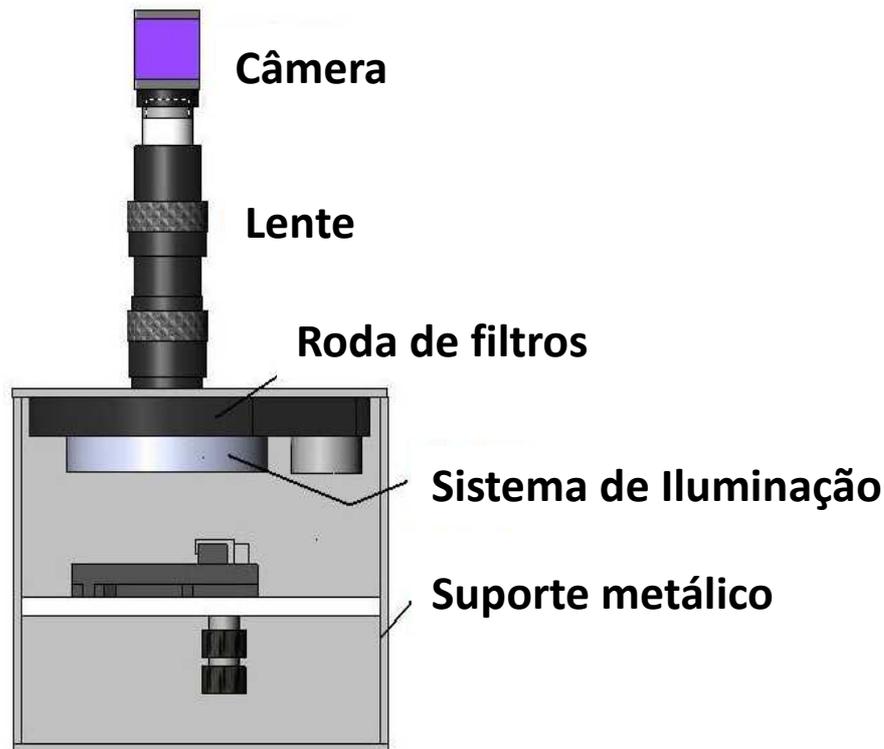


Figura 3: Esquema Sistema de Imagens Fluorescência.⁶⁵

Além da técnica de OCT, outras técnicas ópticas podem ser empregadas no diagnóstico inicial e monitoramento do processo de desmineralização, dentre as quais se destaca o uso do fenômeno da fluorescência.

Existem estudos na literatura envolvendo o uso de equipamentos comercialmente disponíveis que se utilizam da fluorescência para auxiliar no diagnóstico de lesões dos tecidos duros, tais como QLF (*Quantitative Light-induced Fluorescence*)^{58; 68}, DIAGNOdent⁶⁹ e Soprolife^{®70}. O QLF é um equipamento utilizado clinicamente para avaliação de cárie, assim como tem sido estudado para avaliação de erosão dentária em esmalte *in vitro*. Durante o uso deste equipamento para avaliação de lesões de cárie, o tecido duro dental é excitado por luz azul/verde ($\lambda=488\text{nm}$) e o mesmo fluoresce na região de $\lambda=540\text{nm}$. Nas regiões de lesão do esmalte, a intensidade da fluorescência emitida é menor e assim, é possível a detecção e diferenciação entre regiões de esmalte saudáveis e lesionadas⁶⁸. Embora tenha sido evidenciada intensa aplicação deste equipamento para diagnóstico de lesões de cárie, não se observam aplicações para diagnóstico inicial de erosão dentária em dentina.

Para auxiliar no diagnóstico da erosão há um estudo que relata que o QLF é capaz de detectar lesões iniciais de erosão em esmalte⁵⁸. O QLF é um equipamento utilizado para avaliação de cárie dentária e tem sido estudado para avaliação de erosão dentária em esmalte. Este equipamento irradia a amostra de esmalte com luz azul/verde $\lambda=488\text{nm}$ ⁷¹ e a amostra fluoresce na região de $\lambda=540\text{nm}$. Nas regiões de lesão do esmalte a intensidade da fluorescência é menor e o QLF possibilita a detecção e diferenciar regiões de esmalte saudáveis e lesionadas⁶⁸.

No presente trabalho, é proposta a utilização de um sistema de imagens de fluorescência-SIF⁶⁵. Este equipamento apresenta vantagens similares às apresentadas pelo QLF, isto é, a possibilidade de obtenção de imagens em tempo real, mas difere dos atualmente disponíveis no mercado principalmente considerando seu baixo custo⁶⁵.

Tendo em vista a necessidade de diagnóstico precoce também das lesões de erosão, que o método de fluorescência pode apresentar potencial para esta finalidade e que ainda não foi empregado na literatura, o presente estudo objetiva, também, verificar tal possibilidade.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. *Delineamento experimental*

Este trabalho trata-se de um estudo *in vitro* randomizado que utilizou-se de 192 blocos de dentina radicular bovina. Esses blocos foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos experimentais (n = 48):

- Grupo 1: Amostras sem tratamento (controle negativo);
- Grupo 2: Amostras com aplicação de FFA (FFA fosfato acidulado- FFA) (controle positivo);
- Grupo 3: Amostras irradiadas com *laser* de Nd:YAG ($\lambda=1064\text{nm}$);
- Grupo 4: Amostras com aplicação de FFA e posterior irradiação com *laser* Nd:YAG ($\lambda=1064\text{nm}$).

Após os tratamentos, todas as amostras foram avaliadas por OCT e SIF. Em seguida, 16 amostras de cada grupo experimental foram submetidas ao desafio de erosão e abrasão *in vitro* pelos tempos de 5, 10 e 15 dias, respectivamente. Após o período de ciclagem, as amostras foram avaliadas pelas técnicas de OCT, SIF e microscopia eletrônica de varredura (MEV). O delineamento experimental para o presente estudo encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3: Delineamento experimental.

Fatores em estudo	Dentina radicular
Tratamentos	<ul style="list-style-type: none"> • Aplicação de FFA • Irradiação com <i>laser</i>
Período de erosão/abrasão	<ul style="list-style-type: none"> • 0 dias • 5 dias • 10 dias • 15 dias
Unidades experimentais	Blocos de dentina radicular bovina
Variáveis resposta	Área de erosão: μm^2 Profundidade de erosão: μm Índice de intensidade de fluorescência (u.a.) Morfologia superficial

Para esclarecer como as amostras foram divididas e como foram avaliadas, segue abaixo o organograma (Figura 4).

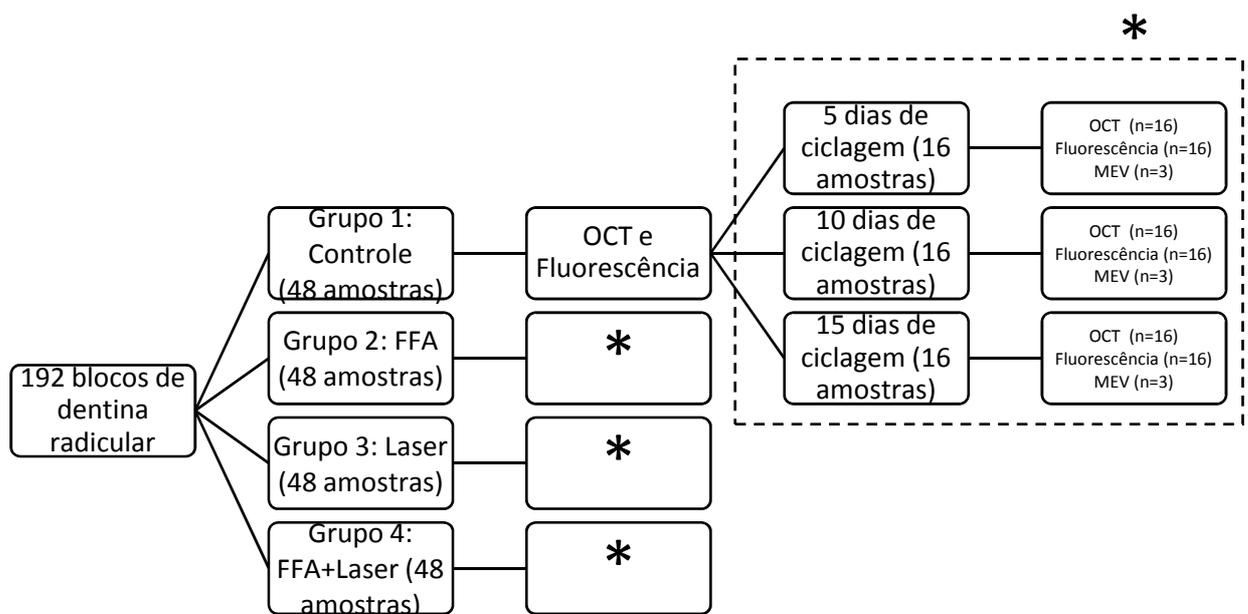


Figura 4: Organograma do delineamento experimental. O símbolo * significa que há repetição das medidas para todos os grupos.

3.2. Preparo das amostras

Para a realização desses estudos, foram utilizados 102 dentes incisivos inferiores bovinos, obtidos em frigorífico após aprovação do presente projeto pela Comissão de Ética de Uso Animal da Universidade Federal do ABC (Anexo 1). Foram utilizados dentes bovinos devido à maior disponibilidade destes em relação aos dentes humanos e por não haver diferenças estatisticamente significativas no estudo de erosão/abrasão em dentina bovina e humana.⁷²

Da superfície radicular cervical de cada dente, foi obtido um bloco de 8 x 4 x 2 mm de dentina por meio de seccionamento com disco de corte diamantado sob refrigeração na cortadeira metalográfica (PICO155, Pace Technologies, USA)²⁹.

Para o seccionamento, primeiramente os dentes incisivos bovinos tiveram sua coroa e raiz separadas e, depois, o bloco foi retirado da raiz como na Figura 5. Para o seccionamento, a raiz do dente bovino foi colada a uma placa acrílica com cera pegajosa odontológica para prótese fixa (Kota[®], Brasil) e seccionada verticalmente (8mm); após, o corte resultante foi colado novamente à placa acrílica para o seccionamento da largura da amostra de 4mm (Figura 5).

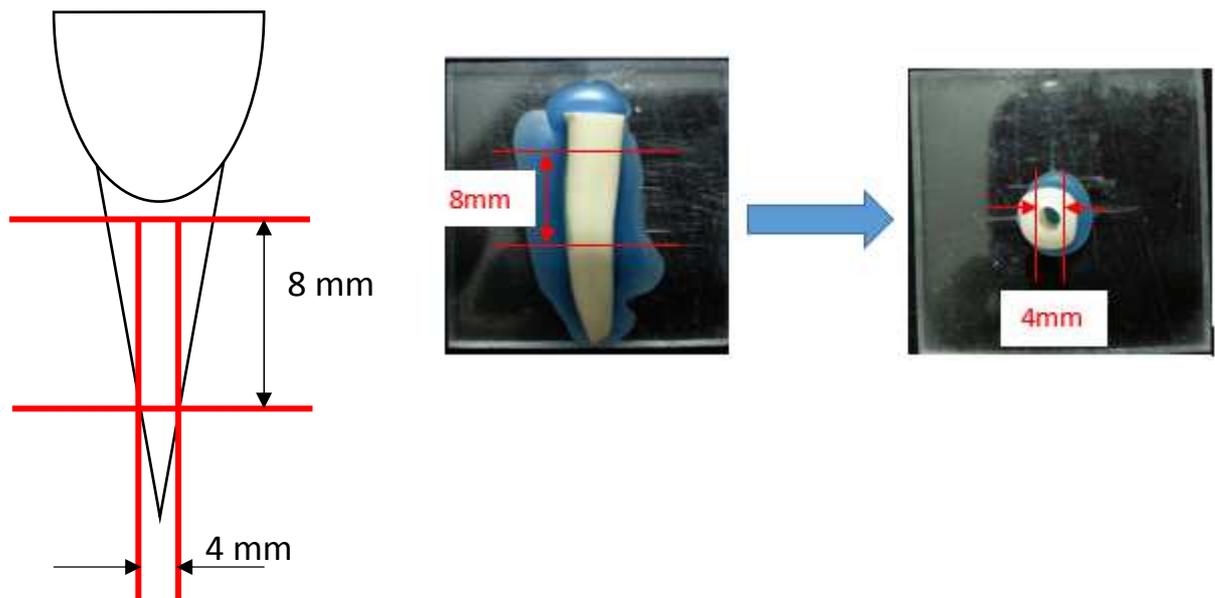


Figura 5: Esquema de secção das amostras.

A superfície do bloco de dentina foi planificada com lixas de granulação 400 e 1200 (Buehler, USA) em lixadeira-politriz APL-4 (Arotec S.A. Ind. Com., Brasil). Após o polimento, as amostras foram colocadas no ultrassom por 5 minutos em água deionizada para limpeza de resíduos do polimento.

Após o preparo, foi limitada uma área ativa da amostra de 8 mm² recobrendo-se as outras áreas com duas camadas de verniz ácido-resistente de cor vermelha (Risqué, Brasil) com auxílio de máscaras feitas com etiquetas (Pimaco, Brasil) e também com cera 7 (Technew, Brasil) (Figura 6). As amostras foram mantidas em ambiente úmido (em algodão estéril umedecido com água deionizada com cristais de timol) sob refrigeração a +4°C até o momento dos experimentos.

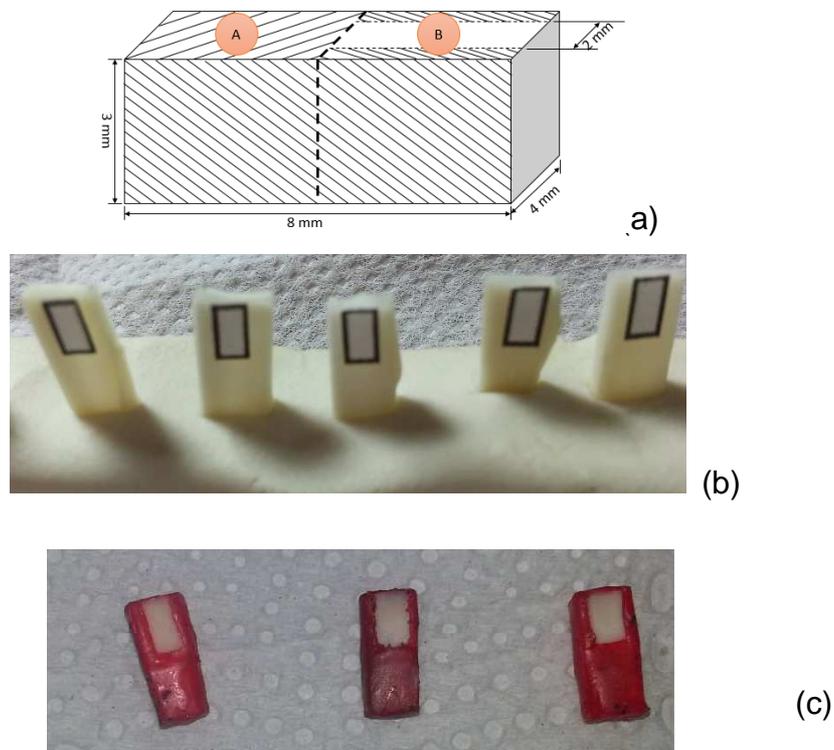


Figura 6:(a)Esquema de delimitação da área ativa da amostra. (b) Ilustração do posicionamento da máscara. (c) Amostras com área ativa já delimitada com esmalte e cera.

Depois da delimitação da área ativa das amostras, cada uma foi analisada individualmente em estereoscópio com aumento de 40X (Nikon Inc.

InstrumentGroup, EUA) para limpeza de resíduos da etiqueta com auxílio de algodão umedecido em água deionizada e instrumentos odontológicos (Figura 7).



Figura 7: Amostra limpa: imagem com aumento de 20X no estereoscópio.

3.3. *Tratamentos das amostras*

3.3.1. *Aplicação de FFA nas amostras*

As amostras do grupo 2 e 4, antes de terem sua área ativa isolada, receberam aplicação de FFA com 1,23% F⁻ e pH 3,3-3,9 (Flutop, Brasil) durante 4 minutos²³. A aplicação foi feita com um cotonete como pode ser observado na Figura 8. Transcorrido esse tempo, as amostras foram lavadas com água deionizada por 1 minuto e secas suavemente com lenço de papel absorvente.



Figura 8: Aplicação de FFA nas amostras dos grupos 2 e 4.

3.4. *Irradiação das amostras*

As amostras grupos 3 e 4, antes de terem sua área ativa isolada, foram irradiadas por contato com o *laser* de Nd:YAG Power™ ST6 (Lares Research®, Estados Unidos) de propriedade do Laboratório Especial de *Laser* em Odontologia (LELO) do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), adquirido por importação da FAPESP (processo 07/55487-0), ajustado conforme discriminado a seguir:

- Comprimento de onda: 1064nm
- Potência: 0,6W
- Taxa de repetição: 10Hz
- Energia de pulso: 60mJ
- Densidade de Energia: 84,9J/cm²
- Duração de pulso: 120 a 300 µs
- Fibra óptica de quartzo: 300 µm de diâmetro

Quando as irradiações foram feitas, para aferir a potência real entregue pelo laser foi utilizado um medidor de potência (Newport, Estados Unidos) (Figura 9) a cada três amostras irradiadas.



Figura 9: (a) Equipamento laser Nd:YAG Power Laser™ ST6. (b) Medidor de potência empregado no presente estudo.

Antes de iniciar a irradiação, as amostras foram recobertas por uma pasta fotoabsorvedora composta por carvão vegetal finamente triturado diluído em etanol e água deionizada na proporção de 1:1⁴⁶. A aplicação do fotoabsorvedor foi feita em toda a superfície da amostra formando uma camada homogênea com auxílio de um *microbrush*(KG Sorensen, Brasil).

A irradiação das amostras foi feita de forma manual sob a forma de varredura (Figura 10) visando a aplicação clínica e padronizando-se o tempo de irradiação para 30 s por amostra de 32 mm². A configuração do *laser* utilizada está descrita acima^{27; 28; 46; 73}.

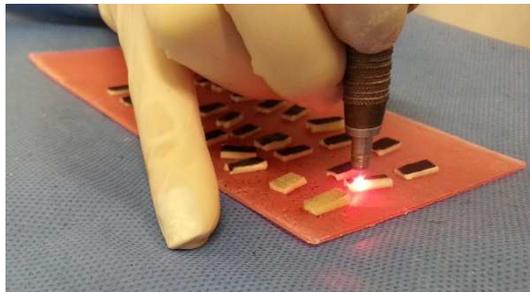


Figura 10: Irradiação das amostras de dentina com *laser* de Nd:YAG.

Depois das irradiações, as amostras foram lavadas com água deionizada por 1 minuto para retirar o excesso da pasta fotoabsorvedora e conservadas em algodão umedecido sob refrigeração.

3.5. *Desafio de erosão e abrasão*

Após tratamentos, 16 amostras de cada grupo experimental foram submetidas à ciclagem de desmineralização e remineralização com abrasão pelos períodos de 5, 10 e 15 dias, respectivamente. O desafio erosivo foi realizado a temperatura ambiente utilizando-se refrigerante Sprite Zero (pH~2,6)¹⁶ (Coca-Cola, Brasil) proveniente de uma garrafa aberta no momento do experimento 4 vezes ao dia, durante 90s por exposição. Após cada desafio erosivo, as amostras eram lavadas com água deionizada por 5s cada e inseridas na solução remineralizadora por 2h. A solução remineralizadora⁷⁴ tem a seguinte composição: 1,5 mM Ca(NO₃).4H₂O, 0,9 mM NaH₂PO₄.2H₂O, 150 mM de KCl, 0,03 ppm F⁻, tampão 0,1M TRIS, 0,64 g/l Timol (pH=7).

Neste período, todas as amostras também foram expostas ao processo de abrasão, utilizando-se creme dental sem FFA⁷⁵ (Malvatrikids Baby, Daudt, Brasil) em suspensão na proporção 1 creme dental:2 água¹⁶ e também por escova elétrica (Pro-saúde Power, Oral-B, Brasil). O processo de abrasão foi realizado 2 vezes ao dia durante 15s e 0,5ml de suspensão de creme dental por amostra, após o primeiro e o último desafio erosivo diários⁷⁶.

Para a abrasão, foi montado um sistema de escovação^{16; 18; 76} onde foi considerada a força média humana aplicada à escova durante o período de escovação que, segundo a literatura, é de 1,5 N^{77; 78} (Figura 11).

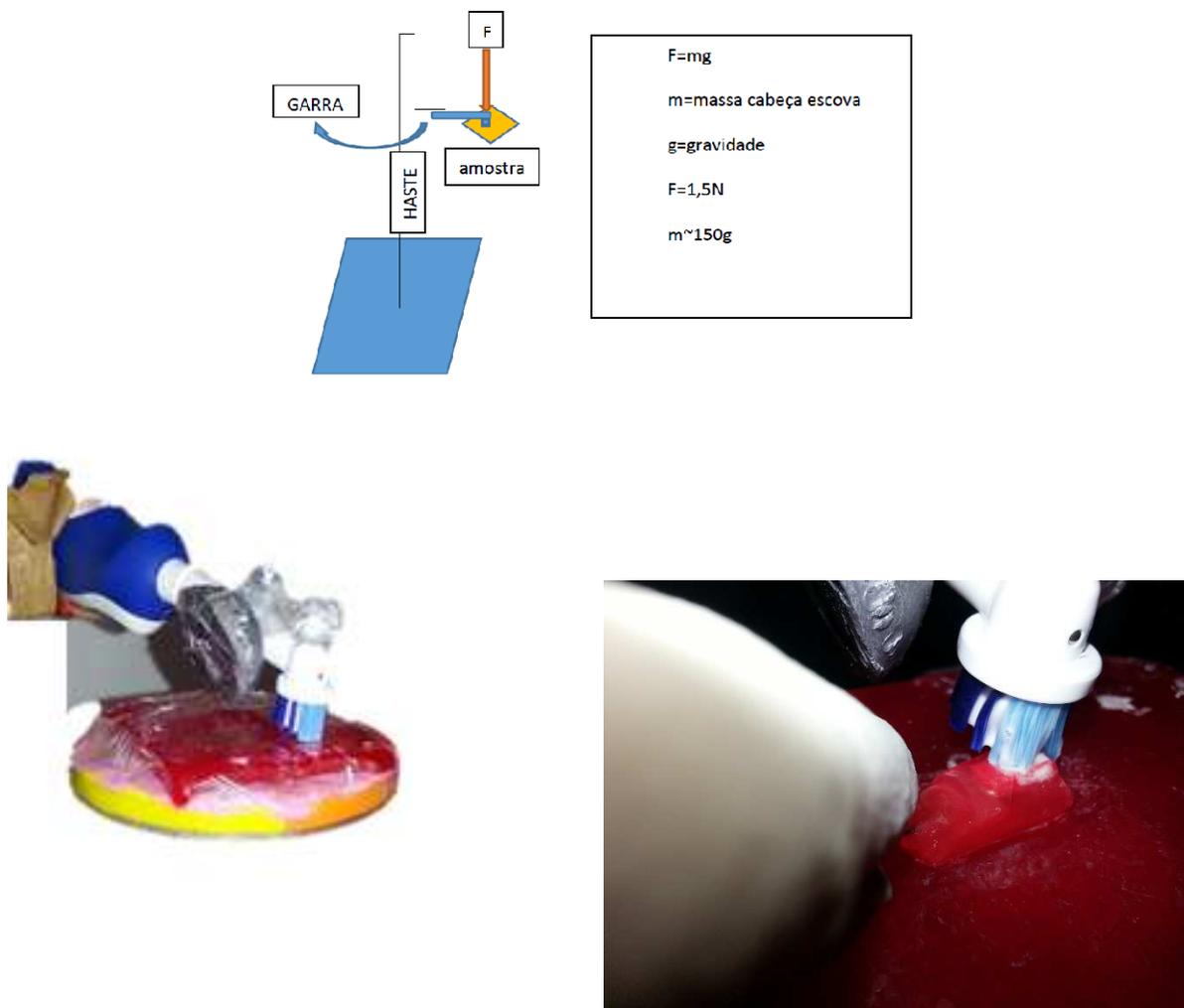
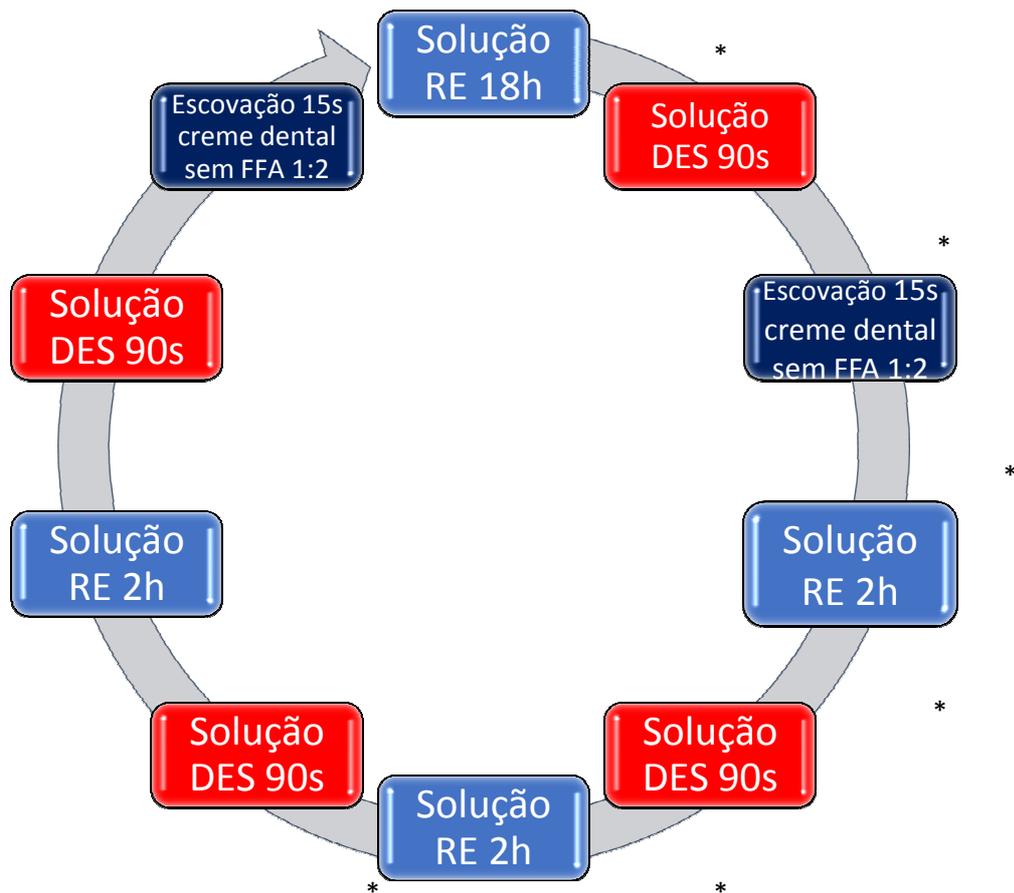


Figura 11: Esquema e ilustração do sistema de escovação elaborado.^{75; 76}

Aciclagemefetuada está descrita no diagrama (Figura 12) abaixo:



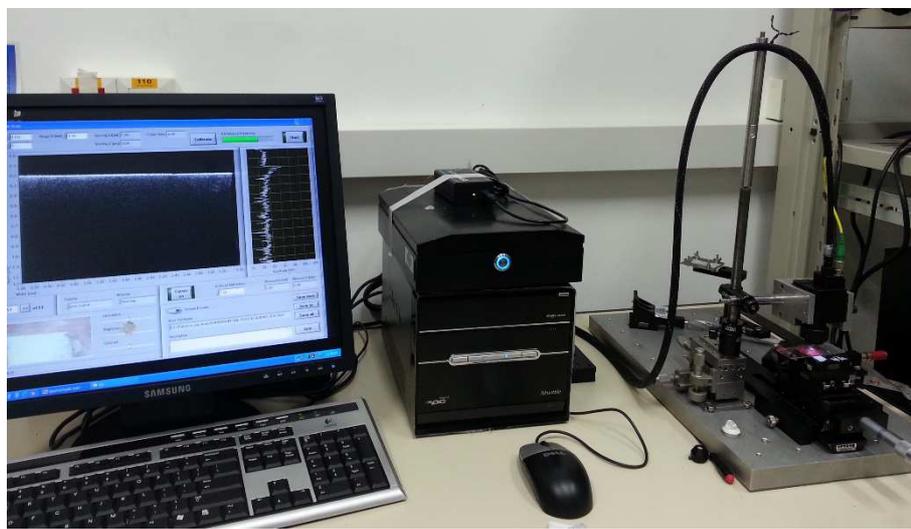
*Lavagem da amostra com água deionizada por 5s e secagem com lenço de papel.

Figura 12:Diagrama de ciclagem do desafio ácido.^{16;18; 74;7516; 18; 76}

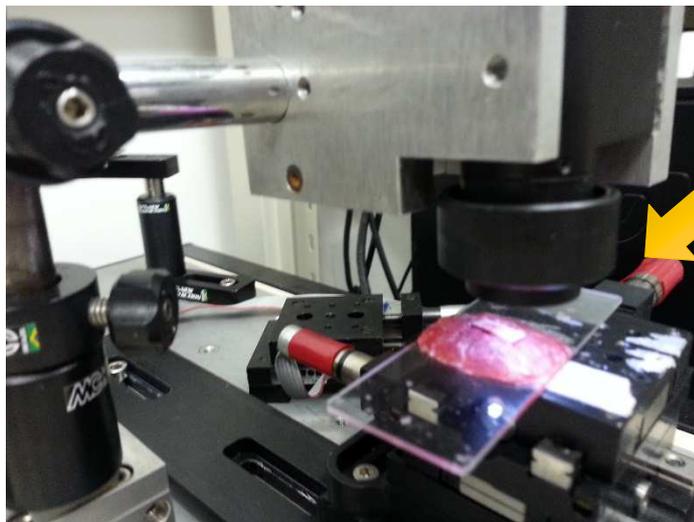
3.6. Avaliação por OCT

A análise por OCT permite mensurar a perda superficial que ocorreu na superfície dentinária. No presente estudo foi utilizado o equipamento de OCT OCP930SR (Thorlabs Inc., Estados Unidos), pertencente ao IPEN-CNEN/SP sob colaboração do Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas (Figura 13).

Para realizar as medidas, o isolamento feito com esmalte e cera foi retirado da lateral das amostras e; nesta superfície lateral, foram feitas 5 marcas igualmente espaçadas usando-se um disco diamantado em baixa rotação (Figura 14). Tais marcas permitiram que fossem realizados 5 escaneamentos de cada amostra, os quais foram feitos sempre no mesmo local nos diferentes tempos experimentais. Foram feitas 5 aquisições de imagem em 5 posições diferentes por amostra para que fosse mensurada a perda de superfície da totalidade da amostra, e não apenas em um ponto específico.



(a)



(b)

A amostra é posicionada nesta lâmina de microscópio no momento da aquisição das imagens.

Figura 13: Equipamento OCT Thorlabs. (a) Unidade básica e sonda do equipamento; (b) Detalhe para o posicionamento da amostra.

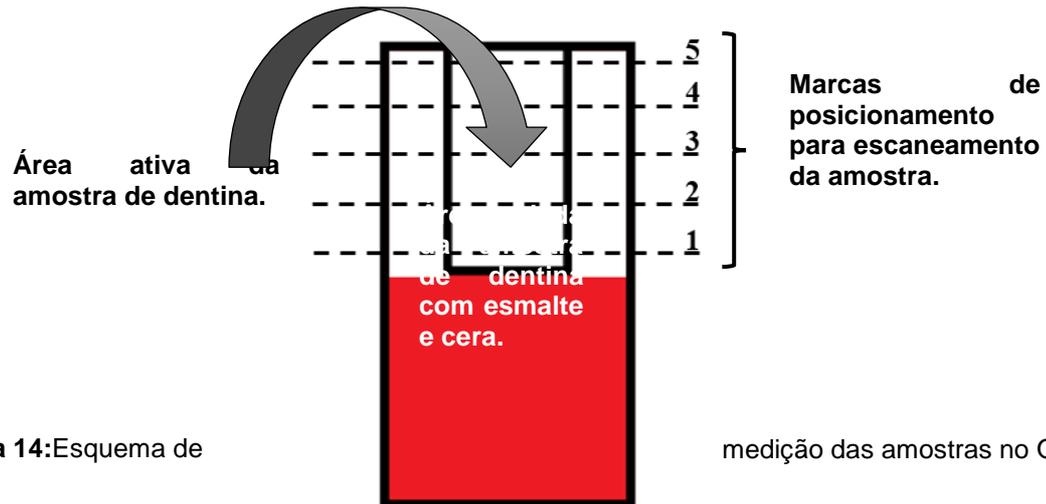


Figura 14:Esquema de

medição das amostras no OCT.

Depois da aquisição das imagens, foi calculada a área de perda de superfície com o auxílio do software *ImageJ* (Figura 15). Em seguida, foi calculada a média das 5 medidas de cada amostra.

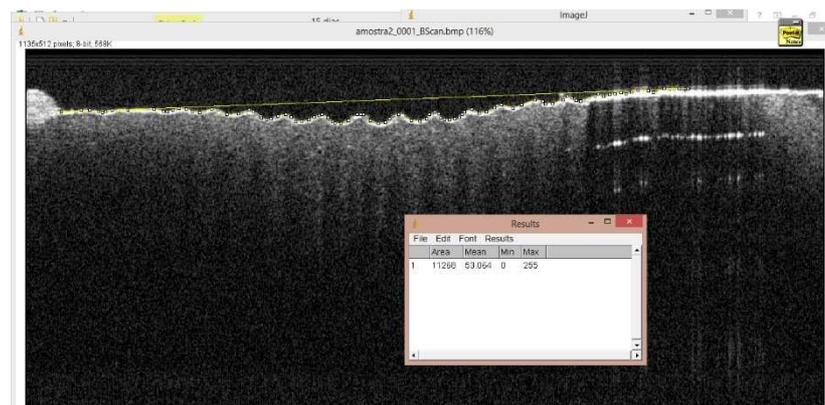


Figura 15:Ilustração do cálculo da área de desmineralização em uma amostra do grupo controle. A linha amarela delimita a superfície da borda da amostra, usada como padrão de referência para o cálculo de tecido perdido.

Foi calculada também a média da profundidade da lesão de erosão formada. Para padronização do cálculo, foram escolhidos horizontalmente os mesmos quatro pontos equidistantes da região de desmineralização de cada imagem obtida (Figura 16). A partir destas mensurações, foi calculada a média por amostra.

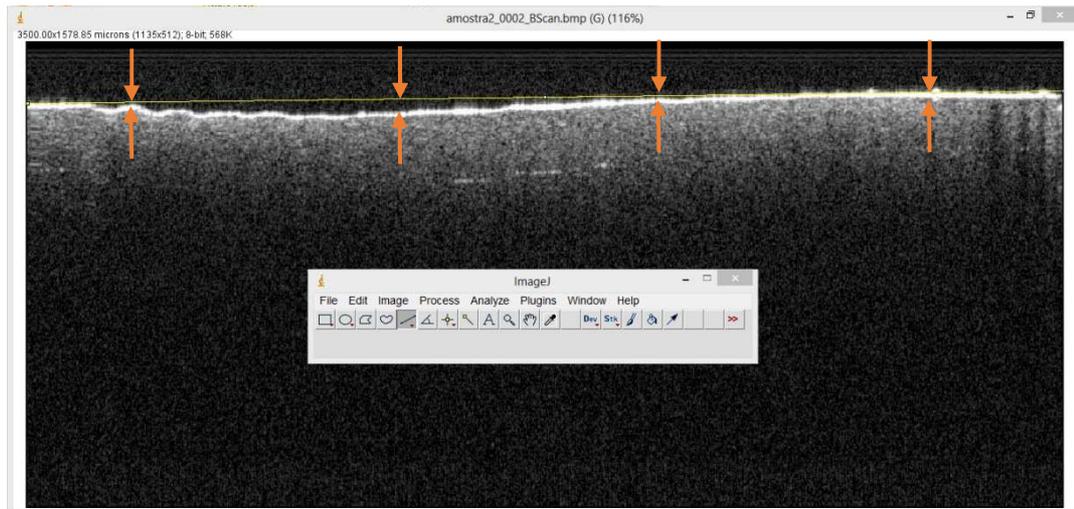


Figura 16: Ilustração das posições escolhidas (setas) para o cálculo da profundidade da lesão de erosão.

3.7. Avaliação por fluorescência (SIF)

A análise de fluorescência na dentina permite identificar mudanças físico-químicas na superfície dentinária. Dessa forma, as imagens das amostras foram adquiridas sempre com uma mesma referência ao lado; isto possibilitou que a amostra referência e amostra com tratamento pudessem ser comparadas (Figura 17), sendo obtido um valor de índice. Nas imagens antes da ciclagem de erosão/abrasão foi utilizada uma amostra de dentina hígida, porém, foi percebido que a fluorescência se alterava ao longo do tempo por causa da desidratação da amostra de dentina hígida. Assim para fazer a aquisição de imagens de fluorescência após a ciclagem de erosão/abrasão, optou-se por trocar a referência por uma amostra de biovidro de composição similar a hidroxiapatita. O índice selecionado para este estudo foi encontrado dividindo-se a intensidade de fluorescência da amostra tratada pela intensidade de fluorescência da amostra referência.

Além disso, durante todo o período experimental, foi utilizado o *PowerMeter* (FieldMaxII, Coherent, USA) para mensurar e monitorar a potência da luz incidida nas amostras (Figura 18), sendo esta mensuração efetuada entre cada amostra. A potência da luz incidida foi mantida constante ajustando-se os valores de tensão e corrente da fonte de energia.

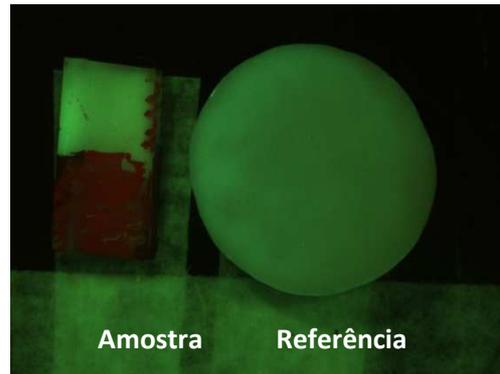


Figura 17: Ilustração da aquisição de imagens no SIF, evidenciando o posicionamento da amostra em relação à referência.

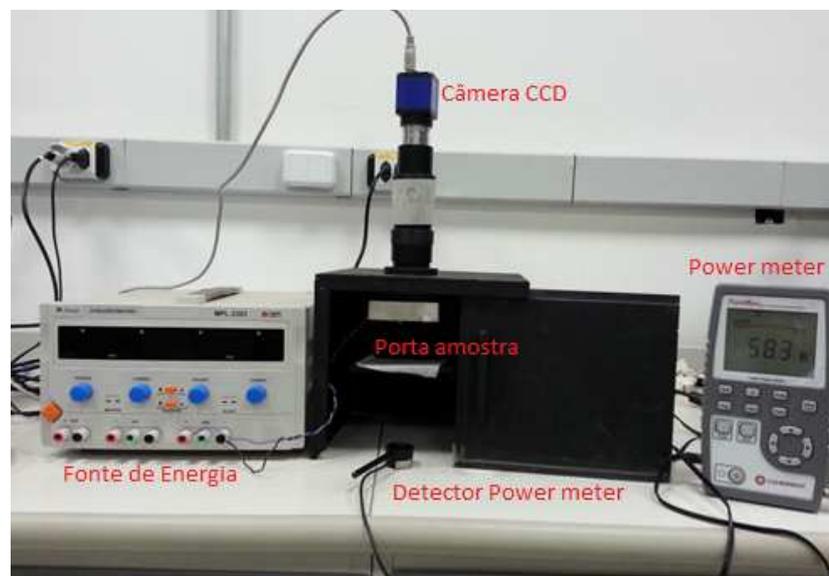


Figura 18: Ilustração SIF com Power meter.

Para aquisição das imagens, foi utilizado o *driver* de captura *wxPropView* (*driver version 2.5.17.1054*) para o ambiente Labview[®] onde os itens de ganho de câmera e tempo de exposição eram ajustados em 10 dB e 10^6 s, respectivamente. As amostras eram posicionadas, a caixa fechada, as imagens capturadas e salvas, após identificação, no formato Bitmap.

Para processar as imagens adquiridas no equipamento SIF, foi desenvolvida uma rotina no *software* Matlab v.7.12.0.635. Na rotina, primeiramente é utilizado o sistema RGB de cores e, sabendo que a amostra sob as condições do SIF do estudo fluorescem na cor verde, a componente G (verde) foi separada das demais. Logo após, é disponibilizado ao usuário que delimite uma máscara

padronizada para cada amostra da imagem e, assim, o software quantifica a componente verde da região.

3.8. Avaliação por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após a avaliação por OCT e SIF, três amostras escolhidas aleatoriamente de cada grupo experimental foram submetidas à lavagem ultrassônica (Cristófoli, Brasil) por 10 minutos, visando a remoção de eventuais partículas remanescentes. Em seguida, as amostras foram fixadas em solução de Glutaraldeído 2% durante 2 horas e lavadas com solução Tampão Fosfato 0,1M (3 lavagens de 5 minutos cada). Posteriormente, as amostras foram deixadas em Tampão Ósmio por 20 minutos, lavadas em seguida com Tampão Fosfato 0,1M (3 lavagens de 5 minutos cada) e desidratadas em soluções de concentrações crescentes de álcool (30%, 50%, 70%, 90%, 96% e 100%), com duas lavagens de 5 minutos em cada solução.

Após a desidratação, as amostras foram fixadas em HMDS (Hexamethydisilazane) por 20 minutos e secas em capela por 2 horas. Então as amostras foram coladas em suportes metálicos apropriados (*stubs*) com auxílio de cola condutora de prata, onde foi depositado um filme fino de ouro (espessura aproximada: 10 μ m) sobre as mesmas por 120 segundos com o equipamento Sputter Coater, TEC SCD050, Bal Tec, Zurich, Ge do IPEN-CNEN/SP. Até o momento das análises, as amostras foram mantidas em dessecador.

As amostras foram examinadas em Microscópio Eletrônico de Varredura Compacto JSM-6010LA (JEOL, Japão) sob temperatura e umidade controlada. Foram feitas aquisições de 5 pontos equidistantes em cada amostra possibilitando a avaliação do seu padrão morfológico geral.

3.9. Análise Estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente de forma individual para cada variável resposta, os blocos foram considerados como unidade experimental. Para a seleção do teste estatístico adequado, foram testadas três pressuposições principais para validar uma possível análise de variância: independência, normalidade e homogeneidade. A independência foi garantida de acordo com a execução do experimento. A homogeneidade de variância foi avaliada pelo teste de

Levene e a normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk, ambos ao nível de significância de 5%. Depois que os pressupostos foram verificados, foi feita a análise de variância e teste *post hoc* de Tukey, ao nível de significância de 5%. Para a realização da análise estatística, foi utilizado o *software* estatístico IBM SPSS Statistics 2.0 (SPSS Inc, Estados Unidos). Quando a homogeneidade não foi verificada, foram feitos os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis seguido do teste de Student-Newman-Keuls.

As variáveis resposta analisadas foram área de erosão, profundidade de erosão e Índice de intensidade de fluorescência. Para cada variável resposta foi feito um processamento estatístico distinto.

Para as variáveis resposta área média de erosão/abrasão, profundidade média de erosão/abrasão e intensidade de fluorescência foram considerados os tratamentos e tempo experimental como fatores de variação.

4. RESULTADOS

4.1. Análise por OCT

Na Figura 19 é mostrada uma imagem representativa de uma amostra de cada período experimental do grupo 1- Controle fornecida pelo equipamento OCT, onde é possível observar irregularidade na superfície da amostra após os períodos de ciclagem e no último período (15 dias de ciclagem) observa-se ainda um abaulamento mostrando a desmineralização consequente do processo de erosão/abrasão ao qual as amostras foram submetidas.

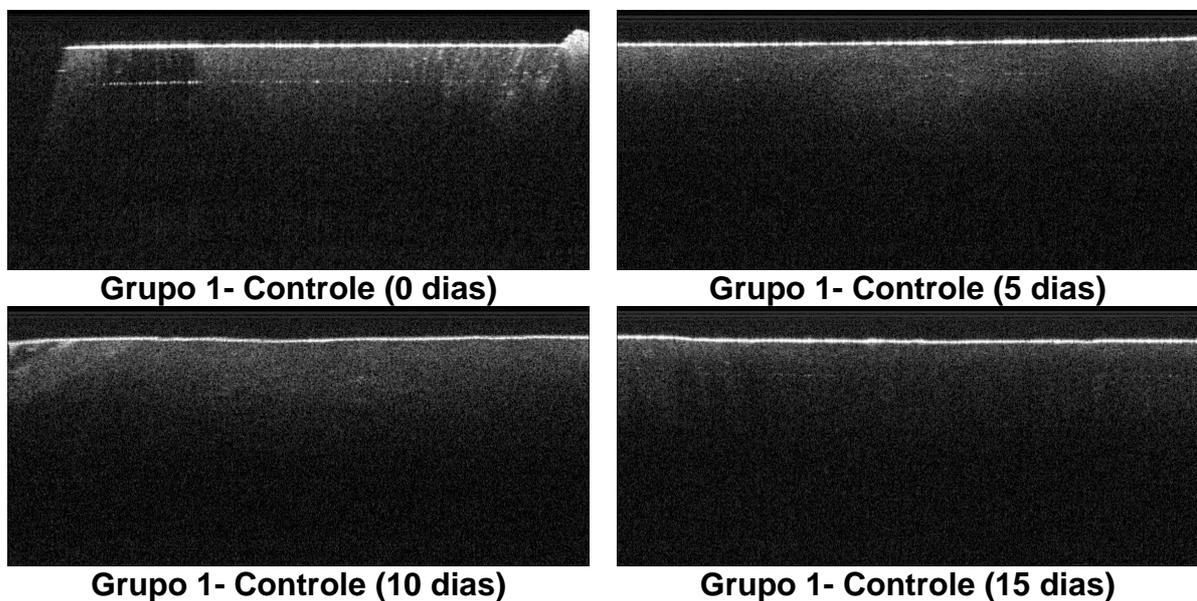


Figura 19: Imagens representativas de OCT das amostras do grupo 1- controle antes e depois da ciclagem de erosão/abrasão.

Na Figura 20, Figura 21 e Figura 22 são mostradas uma imagem representativa de cada amostra de cada tratamento: grupo 2- FFA, grupo 3- laser e grupo 4, respectivamente. As imagens fornecidas pelo equipamento OCT imediatamente após os tratamentos e após o período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Observou-se que a superfície irradiada com laser ficou irregular em relação a amostra sem tratamento. Entretanto, não foram observadas perdas na estrutura da dentina, decorrentes dos tratamentos propostos, que possam ser quantificadas por esta técnica. E também, foi observado que houve desmineralização progressiva em todos os grupos de acordo com o período de ciclagem, porém o

grupo 4 (FFA+laser) apresentou menor desmineralização na sua superfície após 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

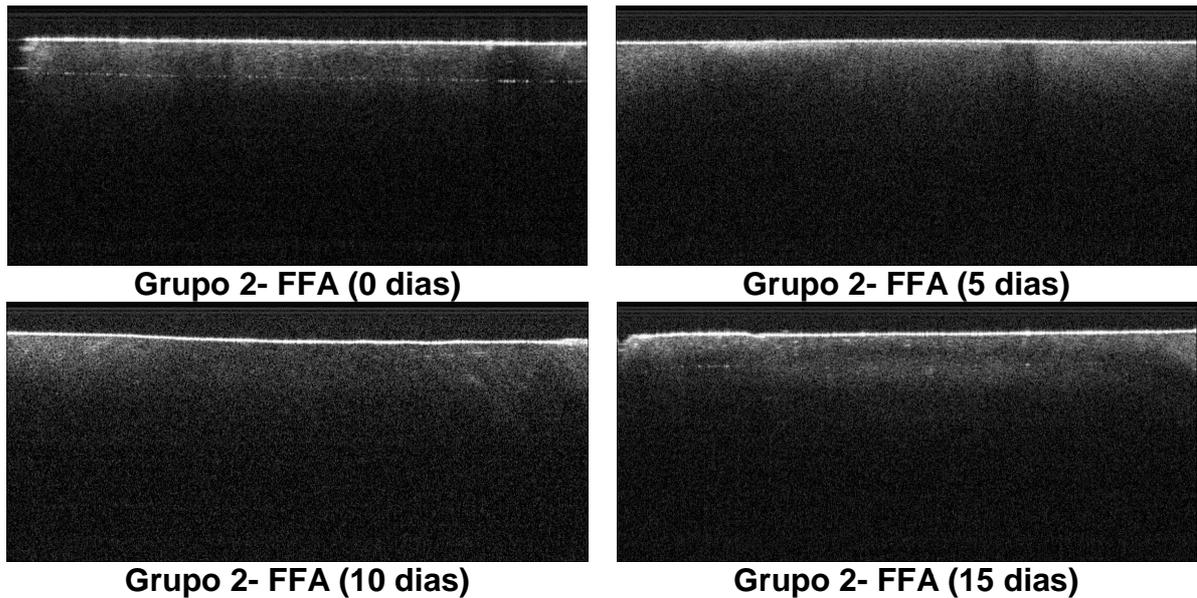


Figura 20: Imagens representativas de OCT das amostras do grupo 2- FFA antes e depois da ciclagem de erosão/abrasão.

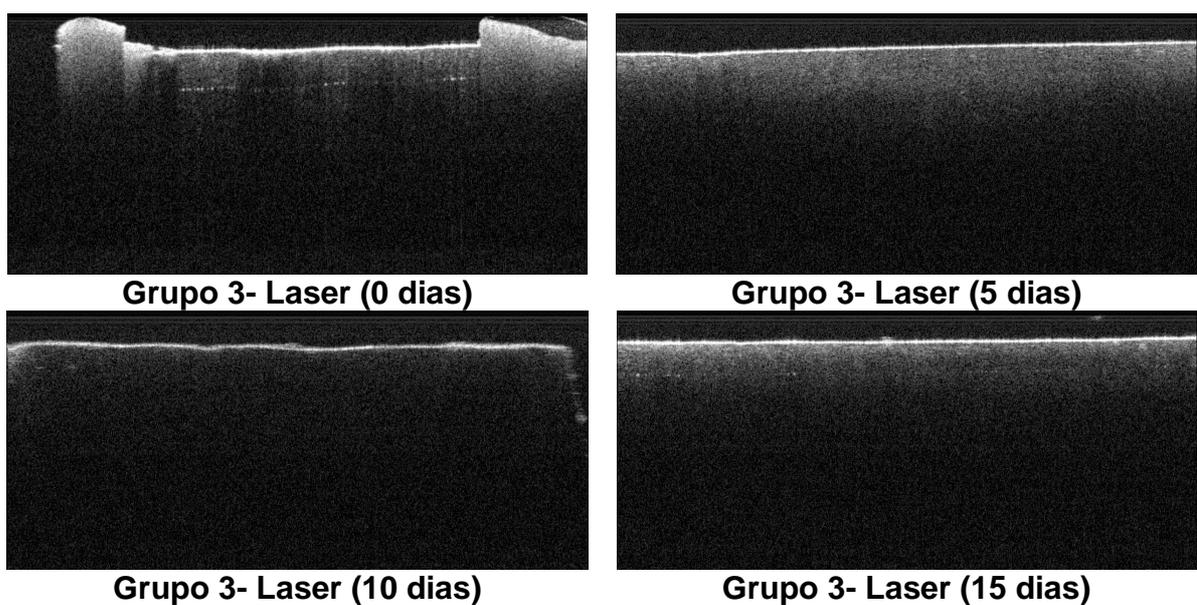


Figura 21: Imagens representativas de OCT das amostras do grupo 3- Laser antes e depois da ciclagem de erosão/abrasão.

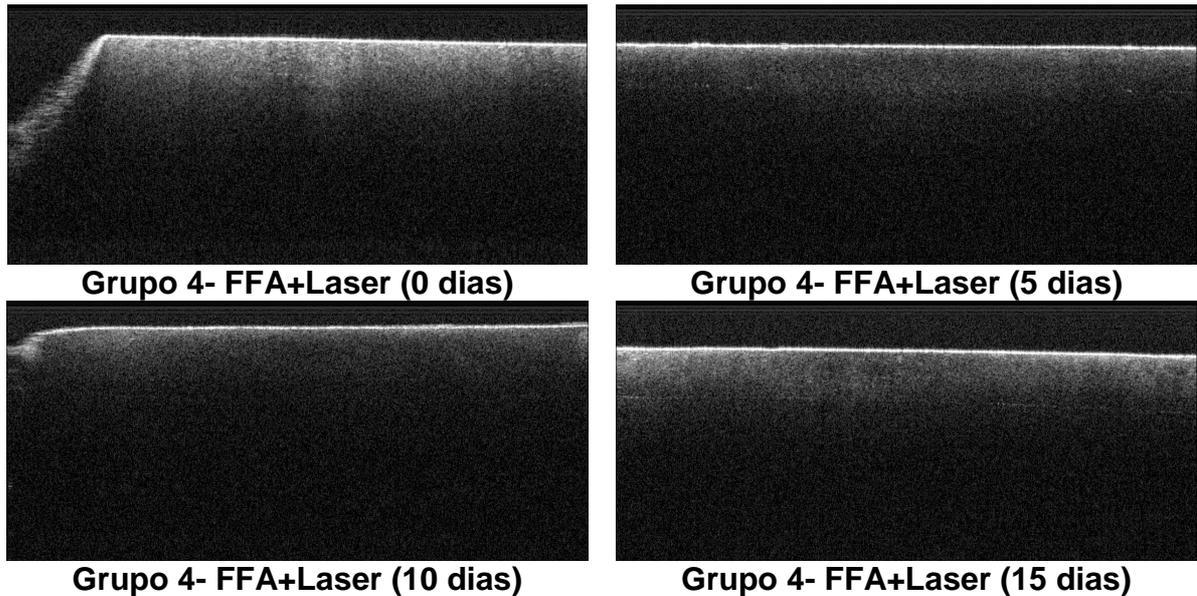


Figura 22: Imagens representativas de OCT das amostras do grupo 4- FFA+Laser antes e depois da ciclagem de erosão/abrasão.

A partir da análise por OCT foi possível observar a evolução das lesões de erosão/abrasão causadas pelo processo de ciclagem e abrasão realizado.

4.1.1. Análise por OCT- Profundidade média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tratamento”

Cada grupo de dados foi avaliado quanto a normalidade, independência e homogeneidade conforme descrito no tópico “Análise estatística”.

A seguir, são apresentados os resultados para a variável resposta profundidade de erosão/abrasão com fator de variação tratamento. Na Tabela 4, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 4: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o período de 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

Profundidade (5 dias)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
G1- Controle	9,7846	2,91818	16
G2- FFA	9,2566	2,51661	16
G3-Laser	5,9898	2,73356	16
G4- FFA+Laser	6,0516	3,17375	16
Total	7,7706	3,29540	64

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados, sendo verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, cujos resultados estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados da análise de variância dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para profundidade no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 5 dias. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	3864,481	1	3864,481	477,183	,000	477,183	1,000
Resíduo	485,912	60	8,099				
Total	4548,641	64					

Neste caso, p é menor do que 0,05 o que indica alta significância, além disso foi observado alto poder. Em seguida, foi realizado o teste *post hoc* (Tukey) que indica as diferenças grupo a grupo. Os resultados podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para os grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para profundidade no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 5 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

<i>Grupos</i>	<i>Diferença</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Valor-p</i>	<i>95% Intervalo de confiança</i>		
				<i>Limite inferior</i>	<i>Limite superior</i>	
G1- Controle	G2-FFA	,5280	1,00614	,953	-2,1307	3,1867
	G3-Laser	3,7948*	1,00614	,002	1,1361	6,4536
	G4- FFA+Laser	3,7330*	1,00614	,003	1,0742	6,3917
G2-FFA	G1- Controle	-,5280	1,00614	,953	-3,1867	2,1307
	G3-Laser	3,2668*	1,00614	,010	,6081	5,9256
	G4- FFA+Laser	3,2050*	1,00614	,012	,5462	5,8637
G3-Laser	G1- Controle	-3,7948*	1,00614	,002	-6,4536	1,1361
	G2-FFA	-3,2668*	1,00614	,010	-5,9256	-,6081
	G4- FFA+Laser	-,0618	1,00614	1,000	-2,7206	2,5969
G4- FFA+Laser	G1- Controle	-3,7330*	1,00614	,003	-6,3917	1,0742

G2-FFA	-3,2050*	1,00614	,012	-5,8637	-,5462
G3-Laser	,0618	1,00614	1,000	-2,5969	2,7206

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 23. Desta forma, observou-se que os grupos irradiados (G3 e G4) apresentaram médias significativamente menores de profundidades de erosão/abrasão em 5 dias de ciclagem (profundidade média de desgaste ao redor de 6 μm –Tabela 4), quando comparados com os grupos controle (profundidade média de desgaste de 9,78 μm) ou apenas tratados com FFA (profundidade média de desgaste de 9,25 μm). A aplicação de FFA previamente à irradiação laser (grupo G4) não resultou em alterações significativas nas profundidades de abrasão (profundidade média de desgaste de 6,05 μm) quando comparado com o grupo apenas irradiado (G3 - (profundidade média de desgaste de 5,98 μm).

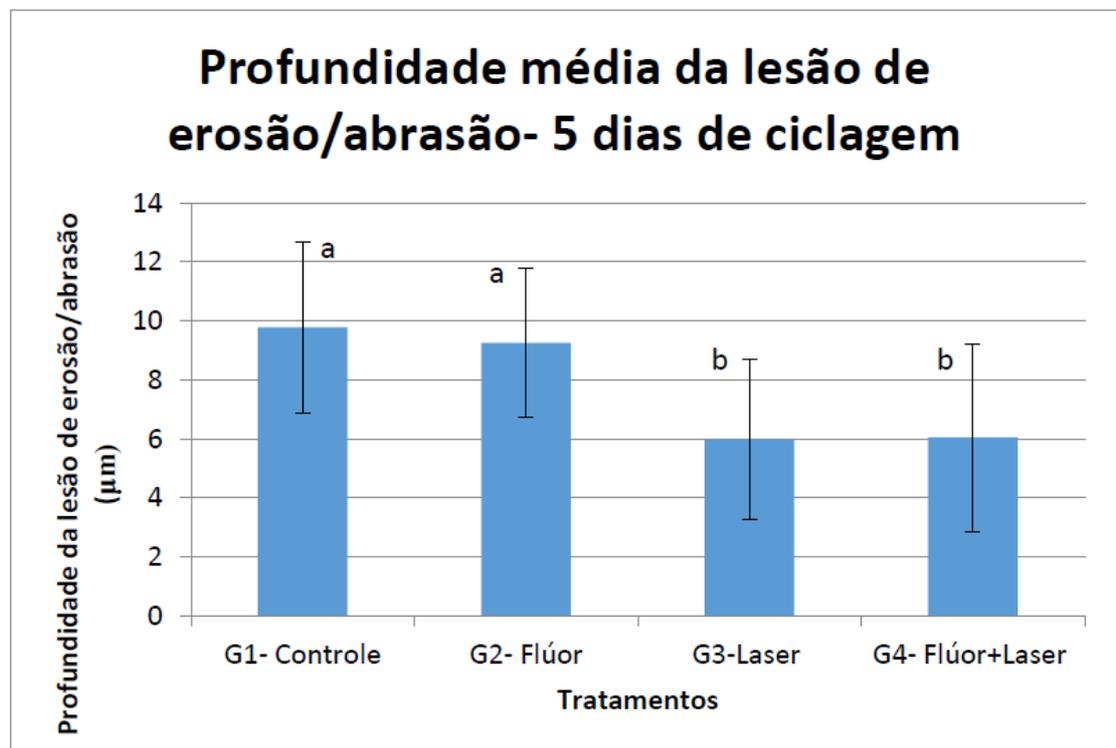


Figura 23: Média das profundidades de erosão/abrasão, em μm , obtidas para os diferentes grupos de tratamento em um período de 5 dias de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na Tabela 7, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade após 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 7: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o período de 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Profundidade (10 dias)</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
G1- Controle	10,6566	3,58642	16
G2- FFA	10,0873	1,94049	16
G3-Laser	7,2306	2,96391	16
G4- FFA+Laser	7,5723	2,81271	16
Total	8,8867	3,19864	64

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados sendo verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, cujos resultados estão descritos na

Tabela 8.

Tabela 8: Resultados da análise de variância dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para profundidade no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 10 dias. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	5054,321	1	5054,321	606,688	,000	606,688	1,000
Resíduo	499,860	60	8,331				
Total	5698,893	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 9).

Tabela 9: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para os grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para profundidade no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 10 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos		Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
G1- Controle	G2-FFA	,5693	1,02048	,944	-	3,2659
	G3-Laser	3,4260*	1,02048	,007	,7294	6,1226
	G4-FFA+Laser	3,0843*	1,02048	,019	,3877	5,7810
G2-FFA	G1-Controle	-,5693	1,02048	,944	-	2,1274
	G3-Laser	2,8567*	1,02048	,034	,1601	5,5534
	G4-FFA+Laser	2,5151	1,02048	,076	-,1816	5,2117
G3-Laser	G1-Controle	-3,4260*	1,02048	,007	-	-,7294
	G2-FFA	-2,8567*	1,02048	,034	-	-,1601
	G4-FFA+Laser	-,3417	1,02048	,987	-	2,3550
G4-FFA+Laser	G1-Controle	-3,0843*	1,02048	,019	-	-,3877
	G2-FFA	-2,5151	1,02048	,076	-	,1816
	G3-Laser	,3417	1,02048	,987	-	3,0383

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 24. Desta forma, observou-se que os grupos irradiados (G3 e G4) apresentaram médias menores de profundidades de erosão/abrasão em 10 dias de ciclagem (profundidade média de desgaste próximo a $7,5\mu\text{m}$ –Tabela 7), porém apenas o grupo G4 se diferenciou estatisticamente quando comparado com os grupos controle (profundidade média de desgaste de $10,65\mu\text{m}$) ou apenas tratados com FFA (profundidade média de desgaste de $10,08\mu\text{m}$). A aplicação de FFA previamente à irradiação laser (grupo

G4) pode ter influenciado a profundidade de abrasão já que o teste de Tukey o diferenciou significativamente dos demais grupos.

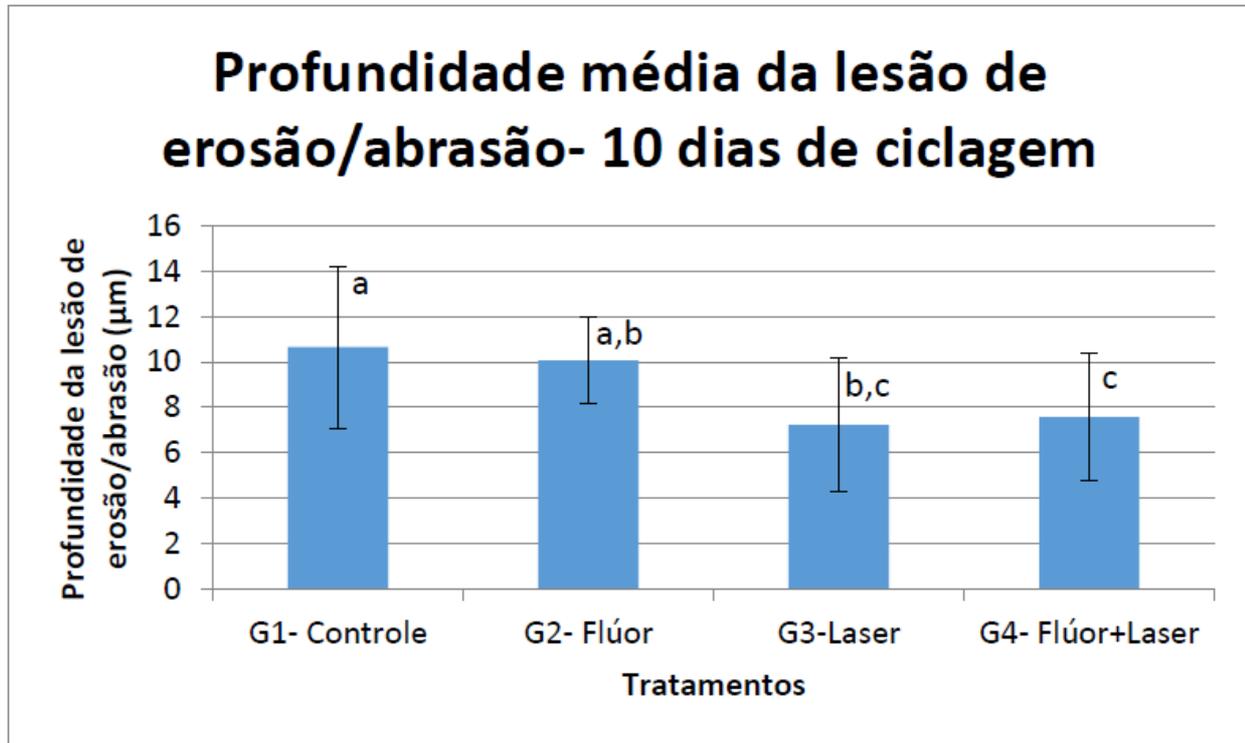


Figura 24: Média das profundidades de erosão/abrasão, em μm , obtidas para os diferentes grupos de tratamento em um período de 5 dias de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na

Tabela 10, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade após 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 10: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o período de 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

Profundidade (15 dias)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
G1- Controle	12,7969	5,02323	16
G2- FFA	14,8092	3,89408	16
G3- Laser	6,9715	4,01794	16
G4- FFA+Laser	8,1296	4,23605	16
Total	10,6768	5,32425	64

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados, sendo verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, os resultados estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados da análise de variância dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para profundidade no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 15 dias. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	7295,654	1	7295,654	391,793	,000	391,793	1,000
Resíduo	1117,271	60	18,621				
Total	9081,551	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na Tabela 12.

Tabela 12: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para os grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para profundidade no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 15 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

<i>Grupos</i>		<i>Diferença</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Valor p</i>	<i>95% Intervalo de confiança</i>	
					<i>Limite inferior</i>	<i>Limite superior</i>
G1- Controle	G2-FFA	-2,0123	1,52566	,555	-6,0439	2,0193
	G3-Laser	5,8254*	1,52566	,002	1,7938	9,8570
	G4-FFA+Laser	4,6673*	1,52566	,017	,6357	8,6989
G2-FFA	G1-Controle	2,0123	1,52566	,555	-2,0193	6,0439
	G3-Laser	7,8377*	1,52566	,000	3,8061	11,8693
	G4-FFA+Laser	6,6796*	1,52566	,000	2,6480	10,7112
G3-Laser	G1-Controle	-5,8254*	1,52566	,002	-9,8570	-1,7938
	G2-FFA	-7,8377*	1,52566	,000	-11,8693	-3,8061
	G4-FFA+Laser	-1,1581	1,52566	,872	-5,1897	2,8735
G4-FFA+Laser	G1-Controle	-4,6673*	1,52566	,017	-8,6989	-,6357
	G2-FFA	-6,6796*	1,52566	,000	-10,7112	-2,6480
	G3-Laser	1,1581	1,52566	,872	-2,8735	5,1897

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 25. Desta forma, foi possível observar que os grupos irradiados (G3 e G4) apresentaram médias significativamente menores de profundidades de erosão/abrasão em 15 dias de ciclagem (profundidade média de desgaste entre 6,9 e 8,1 μm aproximadamente – Tabela 10), quando comparados com os grupos controle (profundidade média de desgaste de 12,79 μm) ou apenas tratados com FFA (profundidade média de desgaste de 14,80 μm). A aplicação de FFA previamente à irradiação laser (grupo G4) não resultou em alterações significativas nas profundidades de abrasão (profundidade média de desgaste de 8,12 μm) quando comparado com o grupo apenas irradiado (G3 - (profundidade média de desgaste de 6,97 μm).

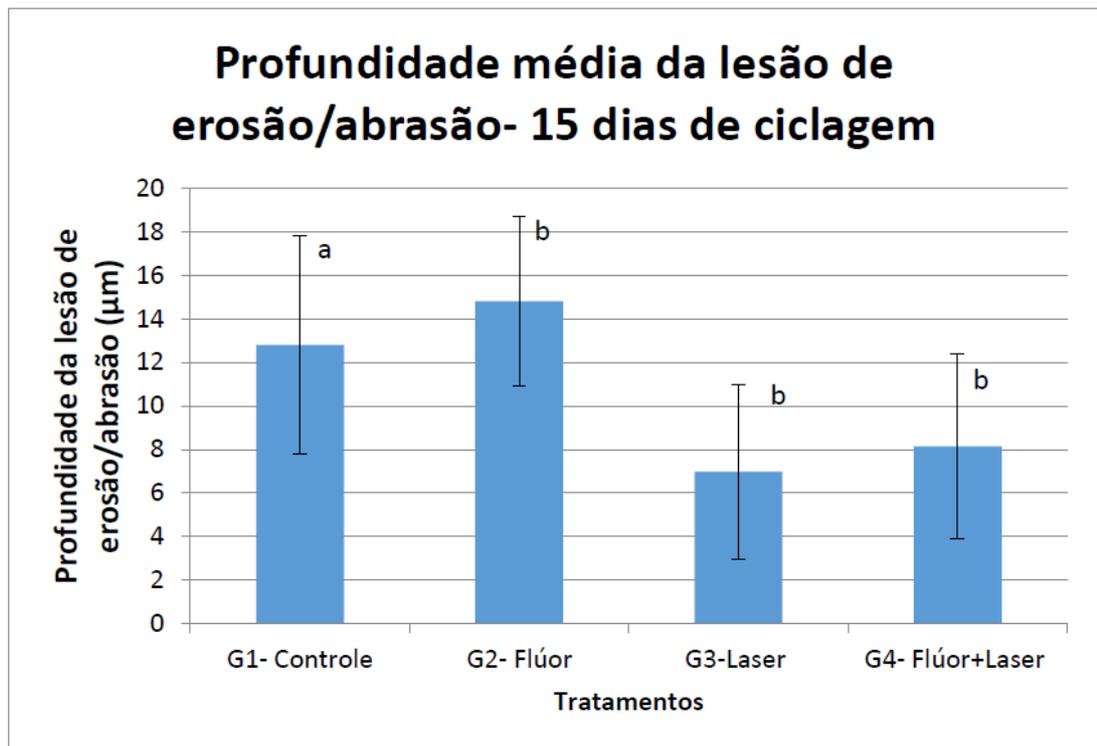


Figura 25: Média das profundidades de erosão/abrasão, em μm , obtidas para os diferentes grupos de tratamento em um período de 15 dias de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

4.1.2. Análise por OCT- Profundidade média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tempo de ciclagem”

A seguir, são apresentados os resultados para a variável resposta profundidade de erosão/abrasão com fator de variação tempo de ciclagem. Na Tabela 13, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade do G1-Controle no decorrer do tempo de ciclagem.

Tabela 13: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o grupo 1- controle. Dados originais.

Profundidade (G1-controle)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
5 dias	9,7846	2,91818	16
10 dias	10,6566	3,58642	16
15 dias	12,7969	5,02323	16
Total	11,0794	4,06345	48

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados, sendo verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, os resultados estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para profundidade do grupo 1 controle. Dados originais.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor -p	F crítico	Poder do estudo
Entre grupos	5892,111	1	5892,111	379,231	,000	379,231	1,000
Dentro dos grupos	76,883	2	38,441	2,474	,096	4,948	,472
Resíduo	699,165	45	15,537				
Total	6668,159	48					

De acordo com o teste ANOVA, não houve diferença significativa da profundidade pós ciclagem nos períodos de 5, 10 e 15 dias. Assim, pode-se dizer que a lesão de erosão/abrasão progride rapidamente nos primeiros 5 dias de ciclagem (profundidade média de 9,78 μm) porém, até 15 dias de ciclagem a profundidade da lesão de erosão/abrasão evolui pouco.

Na Tabela 15, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade do grupo G2-FFA.

Tabela 15: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o grupo 2-FFA. Dados originais.

Profundidade (G2-FFA)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
5 dias	9,2566	2,51661	16
10 dias	10,0873	1,94049	16
15 dias	14,8092	3,89408	16
Total	11,3844	3,76426	48

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator seguido do teste post hoc Games-Howell. Os resultados da ANOVA são mostrados na

Tabela 16.

Tabela 16: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para profundidade do grupo 2- FFA. Dados originais.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor -p	F crítico	Poder do estudo
Entre grupos	6221,003	1	6221,003	738,756	,000	738,756	1,000
Dentro dos grupos	287,034	2	143,517	17,043	,000	34,086	1,000
Resíduo	378,941	45	8,421				
Total	6886,978	48					

Em seguida, foi realizado o teste *post hoc* (Games-Howell) que indica as diferenças grupo a grupo, cujos resultados podem ser observados na Tabela 17.

Tabela 17: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para o grupo FFA no período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos		Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
5 dias	10 dias	-,8308	,79447	,555	-2,7959	1,1343
	15 dias	-5,5527*	1,15913	,000	-8,4352	-2,6702
10 dias	5 dias	,8308	,79447	,555	-1,1343	2,7959
	15 dias	-4,7219*	1,08770	,001	-7,4541	-1,9897

15 dias	5 dias	5,5527*	1,15913	,000	2,6702	8,4352
	10 dias	4,7219*	1,08770	,001	1,9897	7,4541

Para o grupo G2- FFA foi possível não haver diferença estatisticamente significativa na profundidade de erosão/abrasão nos períodos entre 5 e 10 dias de ciclagem, e no período de 15 dias de ciclagem a erosão/abrasão foi significativamente maior comparando-se com os outros períodos.

Na Tabela 18, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade do grupo G3-Laser.

Tabela 18: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o grupo 3-laser. Dados originais.

<i>Profundidade (G3-Laser)</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
5 dias	7,2306	2,96391	16
10 dias	7,2306	2,96391	16
15 dias	6,9715	4,01794	16
Total	7,1443	3,28251	48

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados, sendo verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, os resultados estão descritos Tabela 19.

Tabela 19: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para profundidade do grupo 3- laser. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	2449,943	1	2449,943	218,009	,000	218,009	1,000
Dentro dos grupos	,716	2	,358	,032	,969	,064	,055
Resíduo	505,702	45	11,238				
Total	2956,361	48					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 20).

Tabela 20: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para o grupo laser no período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos		Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
5 dias	10 dias	,0000	1,18521	1,000	-2,8725	2,8725
	15 dias	,2591	1,18521	,974	-2,6134	3,1316
10 dias	5 dias	,0000	1,18521	1,000	-2,8725	2,8725
	15 dias	,2591	1,18521	,974	-2,6134	3,1316
15 dias	5 dias	-,2591	1,18521	,974	-3,1316	2,6134
	10 dias	-,2591	1,18521	,974	-3,1316	2,6134

Desta forma, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa no grupo laser na profundidade de erosão/abrasão pós ciclagem entre os períodos de 5, 10 e 15 dias, ou seja, há um desgaste inicial nos primeiros 5 dias de ciclagem (profundidade de desgaste de 7,23 μm), o qual não progrediu após este tempo.

Na Tabela 21, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade do grupo G4- FFA+Laser.

Tabela 21: Estatística descritiva para a variável resposta profundidade erosão/abrasão para o grupo 3-laser. Dados originais.

Profundidade (G4- FFA+Laser)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
5 dias	6,0516	3,17375	16
10 dias	7,5723	2,81271	16
15 dias	8,1296	4,23605	16
Total	7,2512	3,50058	48

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados, sendo verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator cujos resultados estão descritos na Tabela 22.

Tabela 22: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para profundidade do grupo 3- laser. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	2523,808	1	2523,808	210,738	,000	210,738	1,000
Dentro dos grupos	37,020	2	18,510	1,546	,224	3,091	,311
Resíduo	538,922	45	11,976				
Total	3099,750	48					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 23).

Tabela 23: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para o grupo FFA+laser no período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

<i>Grupos</i>		<i>Diferença</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Valor -p</i>	<i>95% Intervalo de confiança</i>	
					<i>Limite inferior</i>	<i>Limite superior</i>
5 dias	10 dias	-1,5207	1,22352	,435	-4,4860	1,4447
	15 dias	-2,0780	1,22352	,217	-5,0434	,8873
10 dias	5 dias	1,5207	1,22352	,435	-1,4447	4,4860
	15 dias	-,5573	1,22352	,892	-3,5227	2,4080
15 dias	5 dias	2,0780	1,22352	,217	-,8873	5,0434
	10 dias	,5573	1,22352	,892	-2,4080	3,5227

Dessa forma, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa no grupo FFA+laser na profundidade de erosão/abrasão pós ciclagem entre os períodos de 5, 10 e 15 dias, ou seja, ocorre um desgaste maior inicial até 5 dias de ciclagem, mas sem diferenças significativas nos períodos subsequentes, demonstrando comportamento similar ao grupo apenas irradiado (G3).

4.1.3. Análise por OCT- Área média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação "tratamento"

A seguir, os resultados para a variável resposta área média de erosão/abrasão com fator de variação tratamento. Na Tabela 24, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de área média após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 24: Estatística descritiva para a variável resposta área média lesão de erosão/abrasão para o período de 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

Área média (5 dias)	Média (μm^2)	Desvio Padrão	Número de amostras
G1- Controle	26344,8040	4263,07040	16
G2- FFA	24316,1213	7417,99813	16
G3-Laser	10532,4817	7341,21202	16
G4- FFA+Laser	16171,8504	5445,05323	16
Total	19341,3143	8849,85396	64

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como na Tabela 25.

Tabela 25: Resultados da análise de variância dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para área média de lesão de erosão/abrasão no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 5 dias. Dados originais.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-p	F crítico	Poder do estudo
Entre grupos	23941532140,64 4	1	23941 53214 0,644	610,978	,000	610,97 8	1,000
Resíduo	2351136960,492	60	39185 616,00 8				
Total	28875686787,47 9	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 26).

Tabela 26: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para os grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para área média de lesão de erosão/abrasão no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 5 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos		Diferença	Erro padrão	Valor-p	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
G1- Controle	G2- FFA	2028,6827	2213,18 820	,796	- 3819,71 39	7877,079 3
	G3- Laser	15812,322 3*	2213,18 820	,000	9963,92 57	21660,71 88
	G4- FFA+Laser	10172,953 6*	2213,18 820	,000	4324,55 70	16021,35 02
G2-FFA	G1- Controle	- 2028,6827	2213,18 820	,796	- 7877,07 93	3819,713 9
	G3- Laser	13783,639 6*	2213,18 820	,000	7935,24 30	19632,03 62
	G4- FFA+Laser	8144,2709*	2213,18 820	,003	2295,87 43	13992,66 75
G3-Laser	G1- Controle	- 15812,322 3*	2213,18 820	,000	- 21660,7 188	- 9963,925 7
	G2- FFA	- 13783,639 6*	2213,18 820	,000	- 19632,0 362	- 7935,243 0
	G4- FFA+Laser	- 5639,3687	2213,18 820	,063	- 11487,7 652	- 209,0279
G4- FFA+Laser	G1- Controle	- 10172,953 6*	2213,18 820	,000	- 16021,3 502	- 4324,557 0
	G2- FFA	- 8144,2709*	2213,18 820	,003	- 13992,6 675	- 2295,874 3
	G3- Laser	5639,3687	2213,18 820	,063	- 209,027 9	11487,76 52

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na

Figura 26. Desta forma, observou-se que os grupos irradiados (G3 e G4) apresentaram médias significativamente menores de área de erosão/abrasão em 5 dias de ciclagem (área média de desgaste aproximadamente entre 10532 e 16171 μm^2 -Tabela 24), quando comparados com os grupos controle (área média de desgaste de 26344 μm^2) ou apenas tratados com FFA (área média de desgaste de 24316 μm^2). A aplicação de FFA previamente à irradiação laser (grupo G4) não influenciou positivamente nas áreas de abrasão (área média de desgaste de 16171 μm^2) quando comparado com o grupo apenas irradiado (grupo G3 – (área média de desgaste de 10532 μm^2)). E ainda, foi possível observar que o comportamento da área da lesão de erosão/abrasão é similar ao comportamento da profundidade da lesão de erosão/abrasão.

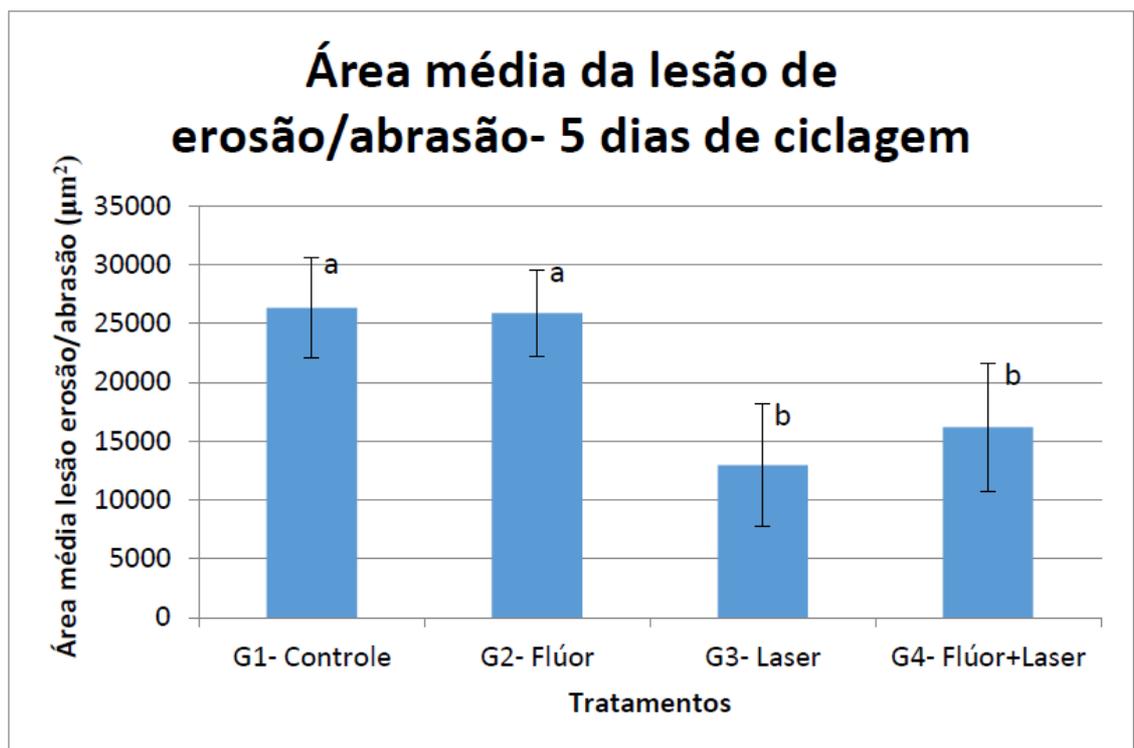


Figura 26: Média das áreas de erosão/abrasão, em μm^2 , obtidas para os diferentes grupos de tratamento em um período de 5 dias de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na Tabela 27, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de área média de lesão erosão/abrasão após 10 dias de ciclagem.

Tabela 27: Estatística descritiva para a variável resposta área média de erosão/abrasão para o período de 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Área média (10 dias)</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
G1- Controle	28197,0508	6470,01128	16
G2- FFA	26297,6382	8788,43268	16
G3-Laser	14765,4790	9201,24090	16
G4- FFA+Laser	21705,0167	4446,63864	16
Total	22741,2962	8967,84481	64

Foi aplicado o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) ao grupo de dados verificado um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, os resultados estão descritos na

Tabela 28.

Tabela 28: Resultados da análise de variância dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para área média no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 10 dias. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	3309865930 3,653	1	3309865 9303,653	592,28 2	,000	592,282	1,000
Resíduo	3352995362 ,962	60	5588325 6,049				
Total	3816526046 3,080	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 29).

Tabela 29: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para os grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para área média de lesão de erosão/abrasão no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 10 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos	Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
G1- Controle	G2-FFA	1899,4126	2642,99 206	,889	- 5084,7497	8883,575 0
	G3-Laser	13431,571 8*	2642,99 206	,000	6447,4095	20415,73 42
	G4- FFA+Laser	6492,0341	2642,99 206	,078	-492,1282	13476,19 65
G2-FFA	G1- Controle	- 1899,4126	2642,99 206	,889	- 8883,5750	5084,749 7
	G3-Laser	11532,159 2*	2642,99 206	,000	4547,9968	18516,32 16
	G4- FFA+Laser	4592,6215	2642,99 206	,314	- 2391,5409	11576,78 39
G3-Laser	G1- Controle	- 13431,571 8*	2642,99 206	,000	- 20415,734 2	- 6447,409 5
	G2-FFA	- 11532,159 2*	2642,99 206	,000	- 18516,321 6	- 4547,996 8
	G4- FFA+Laser	- 6939,5377	2642,99 206	,052	- 13923,700 1	- 44,6247
G4- FFA+Laser	G1- Controle	- 6492,0341	2642,99 206	,078	- 13476,196 5	- 492,1282
	G2-FFA	- 4592,6215	2642,99 206	,314	- 11576,783 9	- 2391,540 9
	G3-Laser	6939,5377	2642,99 206	,052	-44,6247	13923,70 01

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 27. Desta forma,

observou-se que os grupos irradiados (G3 e G4) apresentaram médias significativamente menores de área de erosão/abrasão em 5 dias de ciclagem (área média de desgaste (G3: 14765 μm^2 e G4: 21705,0167- Tabela 27), quando comparados com os grupos controle (área média de desgaste de 28197 μm^2) ou apenas tratados com FFA (área média de desgaste de 26297 μm^2). A aplicação de FFA previamente à irradiação laser (grupo G4) não influenciou positivamente nas áreas de abrasão (área média de desgaste de 21705 μm^2) quando comparado com o grupo apenas irradiado (grupo G3 – (área média de desgaste de 14765 μm^2)).

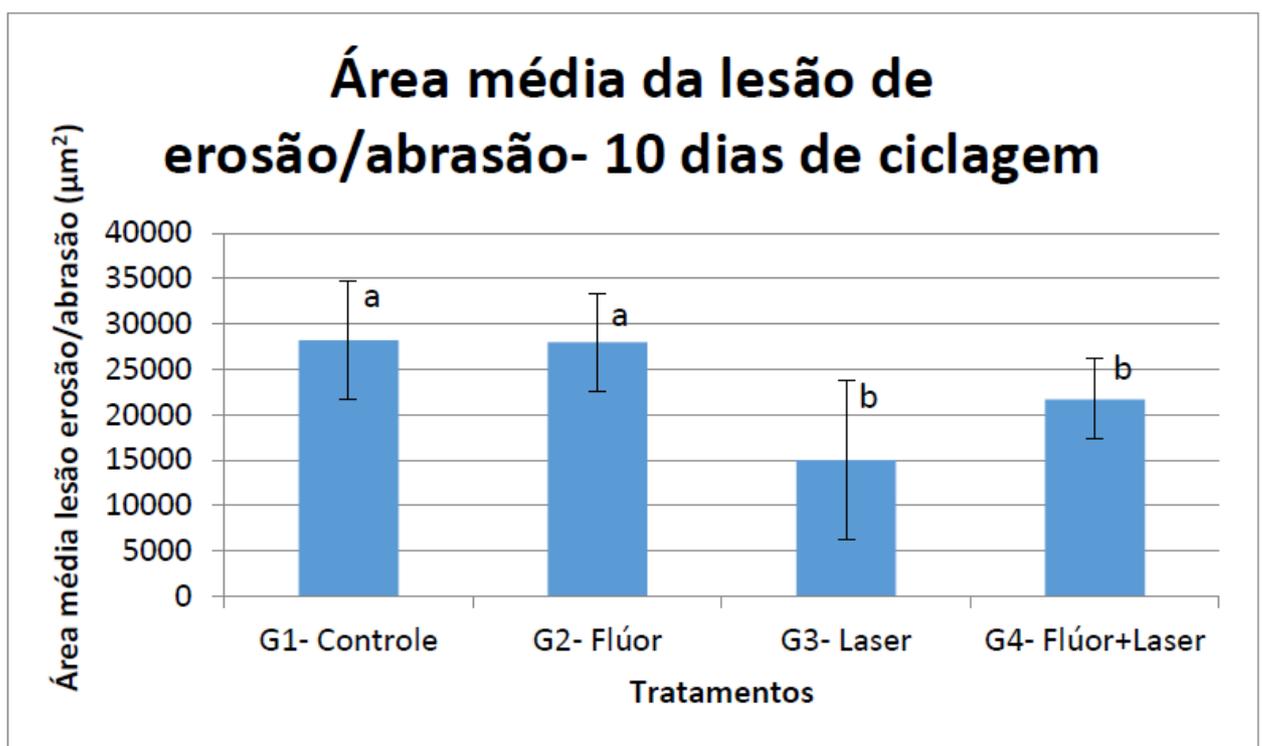


Figura 27: Média das áreas de erosão/abrasão, em μm^2 , obtidas para os diferentes grupos de tratamento em um período de 10 dias de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na Tabela 30, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de área média de lesão erosão/abrasão após 15 dias de ciclagem.

Tabela 30: Estatística descritiva para a variável resposta área média erosão/abrasão para o período de 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

Área média (15 dias)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
G1- Controle	34111,5099	9269,88741	16
G2- FFA	33486,6713	12324,86762	16

G3-Laser	14265,6639	11989,00751	16
G4- FFA+Laser	23045,3670	11315,79933	16
Total	26227,3030	13762,89389	64

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como pode ser visto na Tabela 31.

Tabela 31: Resultados da análise de variância dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para área média no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 15 dias. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	44023771132 ,198	1	4402377 1132,198	345,544	,000	345,544	1,000
Resíduo	7644251851, 065	60	1274041 97,518				
Total	55957057763 ,058	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 32).

Tabela 32: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para os grupos controle, FFA, laser e FFA+laser para área média de lesão de erosão/abrasão no tempo de ciclagem de erosão/abrasão de 15 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos	Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
G1- Controle	G2-FFA	624,8387	3990,67 973	,999	- 9920,61 68	11170,2942
	G3-Laser	19845,846 1*	3990,67 973	,000	9300,39 06	30391,3016
	G4- FFA+Laser	11066,142 9*	3990,67 973	,036	520,687 4	21611,5984
G2-FFA	G1- Controle	-624,8387	3990,67 973	,999	- 11170,2 942	9920,6168
	G3-Laser	19221,007 4*	3990,67 973	,000	8675,55 19	29766,4629
	G4- FFA+Laser	10441,304 2	3990,67 973	,053	- 104,151 3	20986,7597
G3-Laser	G1- Controle	-19845,846 1*	3990,67 973	,000	- 30391,3 016	-9300,3906
	G2-FFA	-19221,007 4*	3990,67 973	,000	- 29766,4 629	-8675,5519
	G4- FFA+Laser	-8779,7031	3990,67 973	,135	- 19325,1 587	1765,7524
G4- FFA+Laser	G1- Controle	-11066,142 9*	3990,67 973	,036	- 21611,5 984	-520,6874
	G2-FFA	-10441,304 2	3990,67 973	,053	- 20986,7 597	104,1513
	G3-Laser	8779,7031	3990,67 973	,135	- 1765,75 24	19325,1587

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 28. Desta forma, foi observado que o grupo irradiado (G3) apresentou média significativamente menor de área de erosão/abrasão em 15 dias de ciclagem (área média de desgaste aproximadamente $14265\mu\text{m}^2$ -Tabela 30), quando comparados com os grupos controle (área média de desgaste de $34111\mu\text{m}^2$) ou apenas tratados com FFA (área média de desgaste de $33486\mu\text{m}^2$). A aplicação de FFA previamente à irradiação laser (grupo G4) não influenciou positivamente nas áreas de abrasão (área média de desgaste de $23045\mu\text{m}^2$) quando comparado com o grupo apenas irradiado (grupo G3 – (área média de desgaste de $14265\mu\text{m}^2$)).

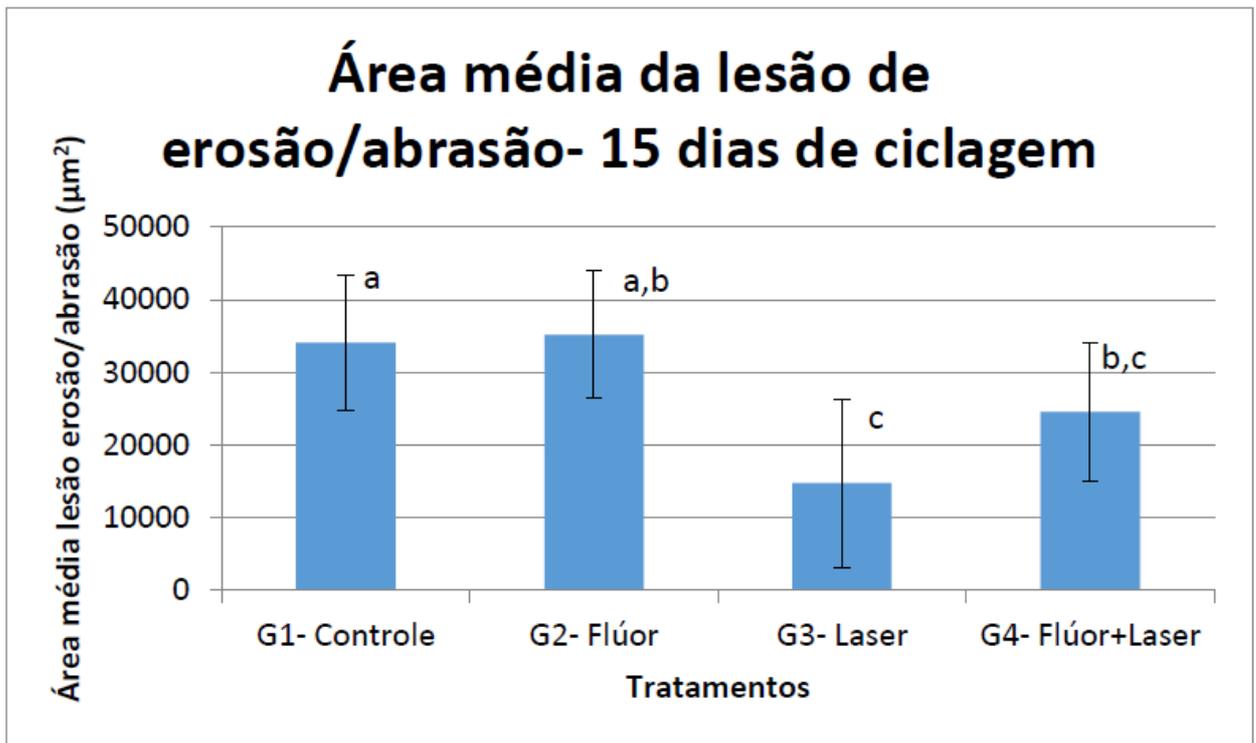


Figura 28: Média das áreas de erosão/abrasão, em μm^2 , obtidas para os diferentes grupos de tratamento em um período de 15 dias de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

4.1.4. Análise por OCT- Área média da lesão de erosão/abrasão com fator de variação “tempo de ciclagem”

A seguir, os resultados para a variável resposta área média de erosão/abrasão com fator de variação tempo. Na Tabela 33, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de área média do G1-Controle.

Tabela 33: Estatística descritiva para a variável resposta área média de erosão/abrasão para o grupo 1- controle. Dados originais.

Área média (G1- controle)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
5 dias	26344,8040	4263,07040	16
10 dias	28197,0508	6470,01128	16
15 dias	34111,5099	9269,88741	16
Total	29551,1216	7601,87879	48

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como na Tabela 34.

Tabela 34: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para profundidade do grupo 1 controle. Dados originais.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor -p	F crítico	Poder do estudo
Entre grupos	4191690175 6,161	1	4191690 1756,161	861,509	,000	861,509	1,000
tempo_estati stica_2	526577957, 745	2	2632889 78,873	5,411	,008	10,823	,820
Resíduo	2189484417 ,130	45	4865520 9,270				
Total	4463296413 1,036	48					

De acordo com o teste ANOVA, houve diferença significativa da área média da lesão pós ciclagem nos períodos de 5, 10 e 15 dias.

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na Tabela 35.

Tabela 35: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para o grupo controle no período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos	Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo Confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
5 dias	10 dias	-1852,2469	2466,15 108	,735	- 7829,24 41	4124,7504
	15 dias	-7766,7060*	2466,15 108	,008	- 13743,7 033	-1789,7087
10 dias	5 dias	1852,2469	2466,15 108	,735	- 4124,75 04	7829,2441
	15 dias	-5914,4591	2466,15 108	,053	- 11891,4 564	62,5381
15 dias	5 dias	7766,7060*	2466,15 108	,008	1789,70 87	13743,7033
	10 dias	5914,4591	2466,15 108	,053	- 62,5381	11891,4564

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 29. Desta forma, foi observado que o grupo 5 dias se diferenciou de forma estatisticamente significativa do grupo 15 dias. Assim, pode-se dizer que a área da lesão para o grupo G1 progrediu lentamente entre os períodos de ciclagem de 5 dias (área média da lesão: 26344 μm^2 - Tabela 30) e 10 dias (área média da lesão: 28197 μm^2 - Tabela 30) e evoluiu mais rapidamente no período de 15 dias (área média da lesão: 34111 μm^2 - Tabela 30).

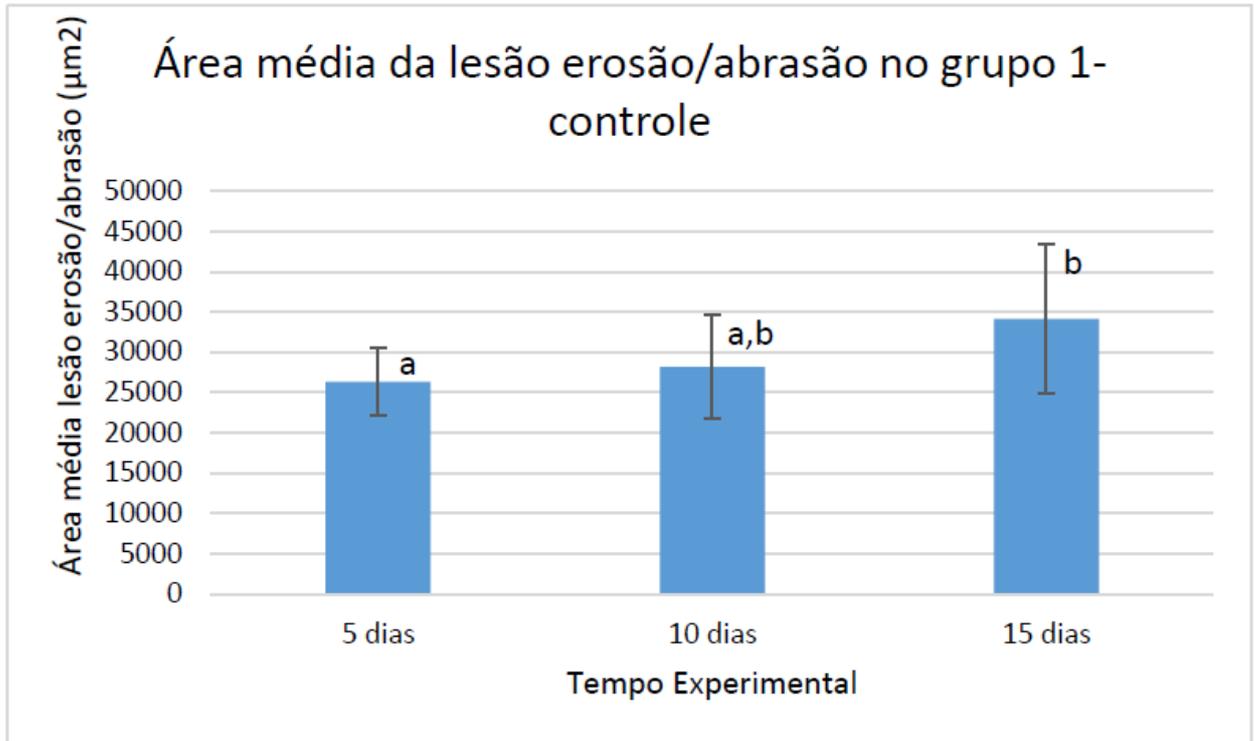


Figura 29: Média das áreas de erosão/abrasão, em μm^2 , obtidas para os diferentes tempos experimentais no grupo controle. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na Tabela 36, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de profundidade do grupo G2-FFA.

Tabela 36: Estatística descritiva para a variável resposta área média de erosão/abrasão para o grupo 2- FFA. Dados originais.

Área média (G2-FFA)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
5 dias	24316,1213	7417,99813	16
10 dias	26297,6382	8788,43268	16
15 dias	33486,6713	12324,86762	16
Total	28033,4769	10322,03929	48

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como pode ser visto na Tabela 37.

Tabela 37: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para área média da lesão de erosão/abrasão do grupo 2 FFA. Dados originais.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor -p	F crítico	Poder do estudo
Entre grupos	3772203971 2,149	1	3772203 9712,149	398,240	,000	398,240	1,000
tempo_estatística_2	745107159, 958	2	3725535 79,979	3,933	,027	7,866	,679
Resíduo	4262484106 ,840	45	9472186 9,041				
Total	4272963097 8,947	48					

De acordo com o teste ANOVA, houve diferença significativa da profundidade pós ciclagem nos períodos de 5, 10 e 15 dias.

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 38).

Tabela 38: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para o grupo FFA no período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para o grupo FFA para o período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem.

Grupos	Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
5 dias	10 dias	-1981,5169	3440,96 406	,834	- 10321,08 42	6358,050 3
	15 dias	-9170,5500*	3440,96 406	,028	- 17510,11 72	- 830,9827
10 dias	5 dias	1981,5169	3440,96 406	,834	- 6358,050 3	10321,08 42
	15 dias	-7189,0331	3440,96 406	,103	- 15528,60 03	1150,534 2
15 dias	5 dias	9170,5500*	3440,96 406	,028	830,9827	17510,11 72
	10 dias	7189,0331	3440,96 406	,103	- 1150,534 2	15528,60 03

De acordo com o teste de Tukey foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes, como pode ser observado na Figura 30. Desta forma, foi observado que o grupo 5 dias se diferenciou de forma estatisticamente significativa do grupo 15 dias. Assim, pode-se dizer que a área da lesão para o grupo G2 progrediu lentamente entre os períodos de ciclagem de 5 dias (área média da lesão: 24316 μm^2 -Tabela 36) e 10 dias (área média da lesão: 26297 μm^2 -Tabela 36) e evoluiu mais rapidamente no período de 15 dias (área média da lesão: 33486 μm^2 -Tabela 36).

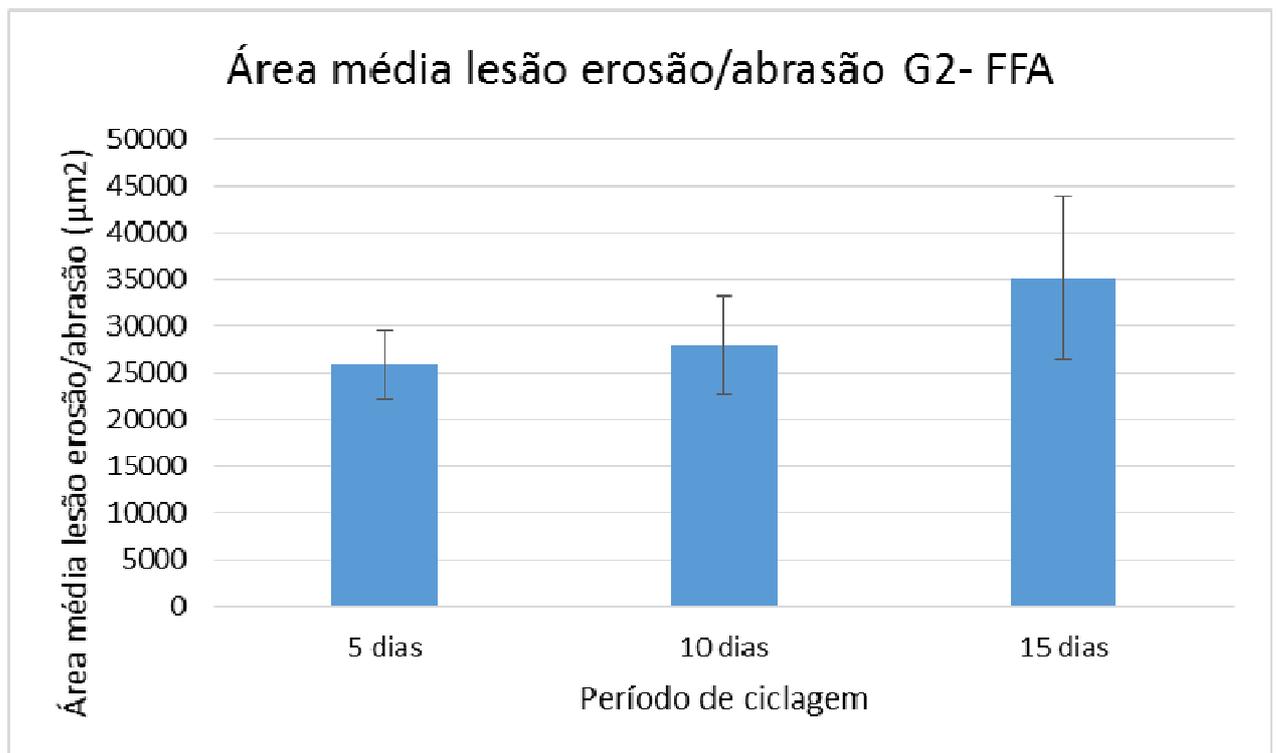


Figura 30: Média das áreas de erosão/abrasão, em μm^2 , obtidas para os diferentes tempos experimentais no grupo controle. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na Tabela 39, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de área média do grupo G3-Laser.

Tabela 39: Estatística descritiva para a variável resposta área média de erosão/abrasão para o grupo 3-Laser. Dados originais.

Área média (G3-Laser)	Média	Desvio Padrão	Número de amostras
5 dias	10532,4817	7341,21202	16
10 dias	14765,4790	9201,24090	16
15 dias	14265,6639	11989,00751	16

Total	13187,8749	9681,75864	48
--------------	-------------------	-------------------	-----------

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como na Tabela 40.

Tabela 40: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para profundidade do grupo 3 laser. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	8348162072,384	1	8348162072,384	88,718	,000	88,718	1,000
tempo_estatística_2	171225228,482	2	85612614,241	,910	,410	1,820	,197
Resíduo	4234387934,538	45	94097509,656				
Total	12753775235,403	48					

De acordo com o teste ANOVA, não houve diferença significativa da área da lesão pós ciclagem nos períodos de 5, 10 e 15 dias.

Na Tabela 41, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de área média do grupo G4-FFA+Laser.

Tabela 41: Estatística descritiva para a variável resposta área média de erosão/abrasão para o grupo 4-FFA+Laser. Dados originais.

<i>Área média (G4-FFA+Laser)</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
5 dias	16171,8504	5445,05323	16
10 dias	21705,0167	4446,63864	16
15 dias	23045,3670	11315,79933	16
Total	20307,4114	8104,20010	48

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator seguido do teste de Games-Howell. Os resultados da ANOVA se encontram na Tabela 42.

Tabela 42: Resultados da análise de variância dos períodos de ciclagem 5, 10 e 15 dias para área de lesão de erosão/abrasão do grupo 4 FFA+ laser. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	1979476588 4,364	1	1979476 5884,364	334,619	,000	334,619	1,000
tempo_estatística_2	424841067, 854	2	2124205 33,927	3,591	,036	7,182	,636
Resíduo	2662027716 ,011	45	5915617 1,467				
Total	2288163466 8,229	48					

De acordo com o teste ANOVA, houve diferença significativa da profundidade pós ciclagem nos períodos de 5, 10 e 15 dias.

Os resultados do teste de Games-Howell podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 43).

Tabela 43: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Games-Howell para o grupo FFA no período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Games-Howell para o grupo FFA+laser para o período de 5, 10 e 15 dias de ciclagem.

Grupos	Diferença	Erro Padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
5 dias	10 dias	-5533,1663*	1757,50 533	,010	- 9874,8027	- 1191,5300
	15 dias	-6873,5167	3139,42 589	,096	- 14770,5108	- 1023,4775
10 dias	5 dias	5533,1663*	1757,50 533	,010	1191,5300	9874,8027
	15 dias	-1340,3503	3039,53 029	,899	- 9045,0006	- 6364,3000
15 dias	5 dias	6873,5167	3139,42 589	,096	- 1023,4775	14770,5108
	10 dias	-499,8151	3429,60 475	,988	- 8811,8518	- 7812,2215

De acordo com o teste de Games-Howell foi possível diferenciar os grupos estatisticamente significantes. Pode-se observar que a área de abrasão aumentou significativamente até 10 dias (área de abrasão: 21705 μm^2 - Tabela 41), mas não houve diferença entre os grupos de 10 e 15 dias.

4.2. Análise por SIF

Na Figura 31 é mostrada uma imagem de fluorescência representativa de cada grupo experimental após os tratamentos, onde é possível observar que, nos grupos *laser* e FFA + *laser*, a intensidade de fluorescência parece diminuir em relação às intensidades da amostra referência.

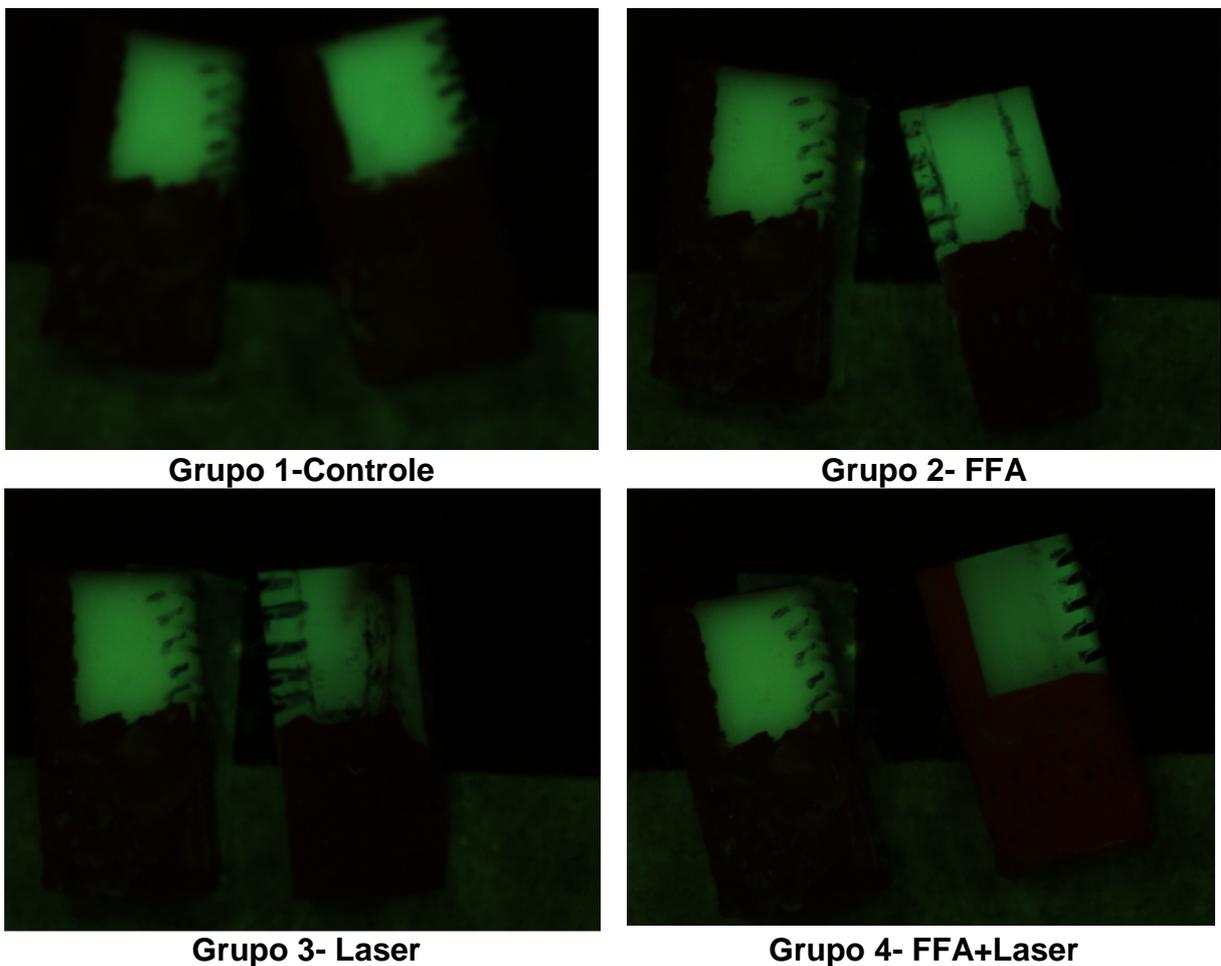


Figura 31: Imagens representativas de fluorescência das amostras de dentina nos diferentes tratamentos aplicados.

Na

Figura 32 é mostrada uma imagem de fluorescência representativa de cada grupo experimental após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão, onde é possível observar que a intensidade de fluorescência da amostra do grupo controle parece ser maior do que as outras amostras.

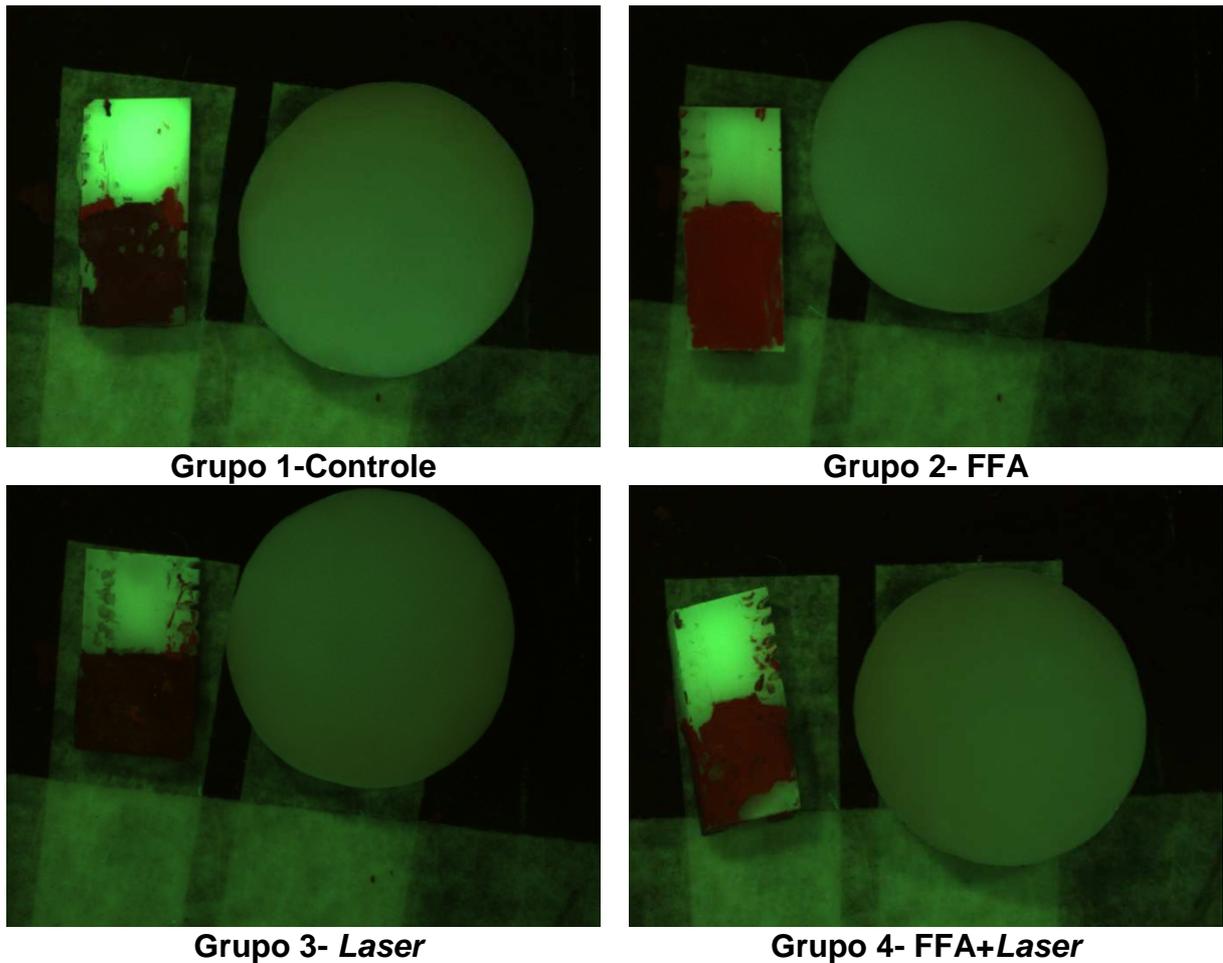
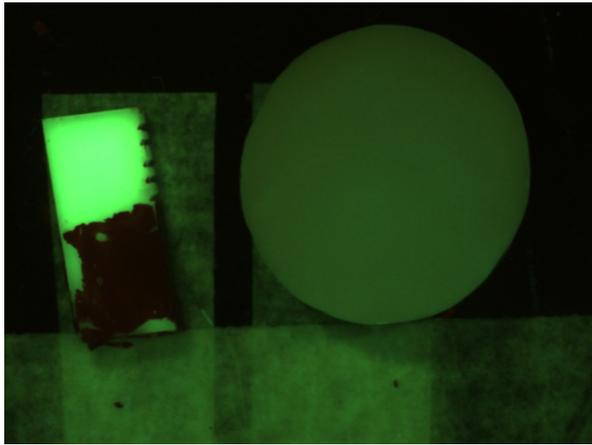
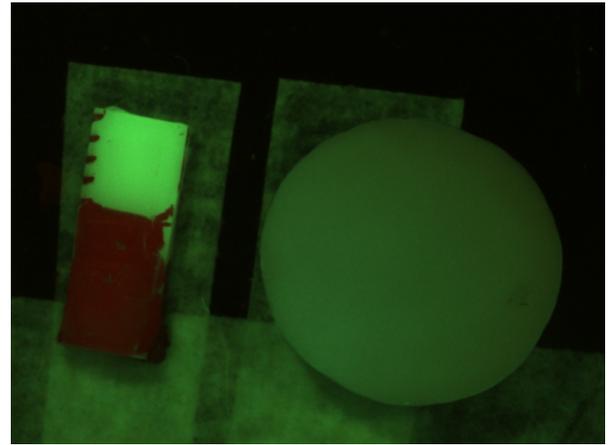


Figura 32: Imagens representativas de fluorescência das amostras de dentina nos diferentes tratamentos aplicados após 5 dias de ciclagem.

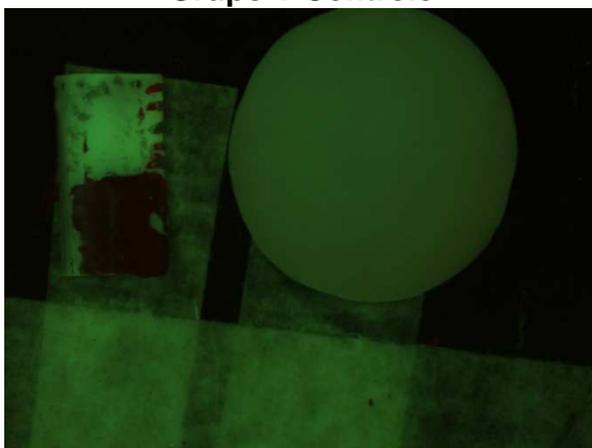
Na Figura 33 é mostrada uma imagem de fluorescência representativa de cada grupo experimental após 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão, onde é possível observar que a intensidade de fluorescência da amostra do grupo controle parece ser maior do que as outras amostras e a amostra do grupo laser é a que parece emitir menor intensidade de fluorescência.



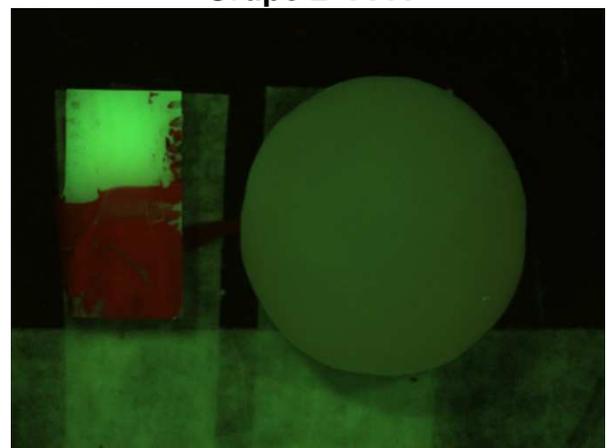
Grupo 1-Controle



Grupo 2- FFA



Grupo 3- Laser



Grupo 4- FFA+Laser

Figura 33:Imagens representativas de fluorescência das amostras de dentina nos diferentes tratamentos aplicados após 10 dias de ciclagem.

Na Figura 34 é mostrada uma imagem de fluorescência representativa de cada grupo experimental após 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão, onde é possível observar que a intensidade de fluorescência de todas amostras parece ser semelhante.

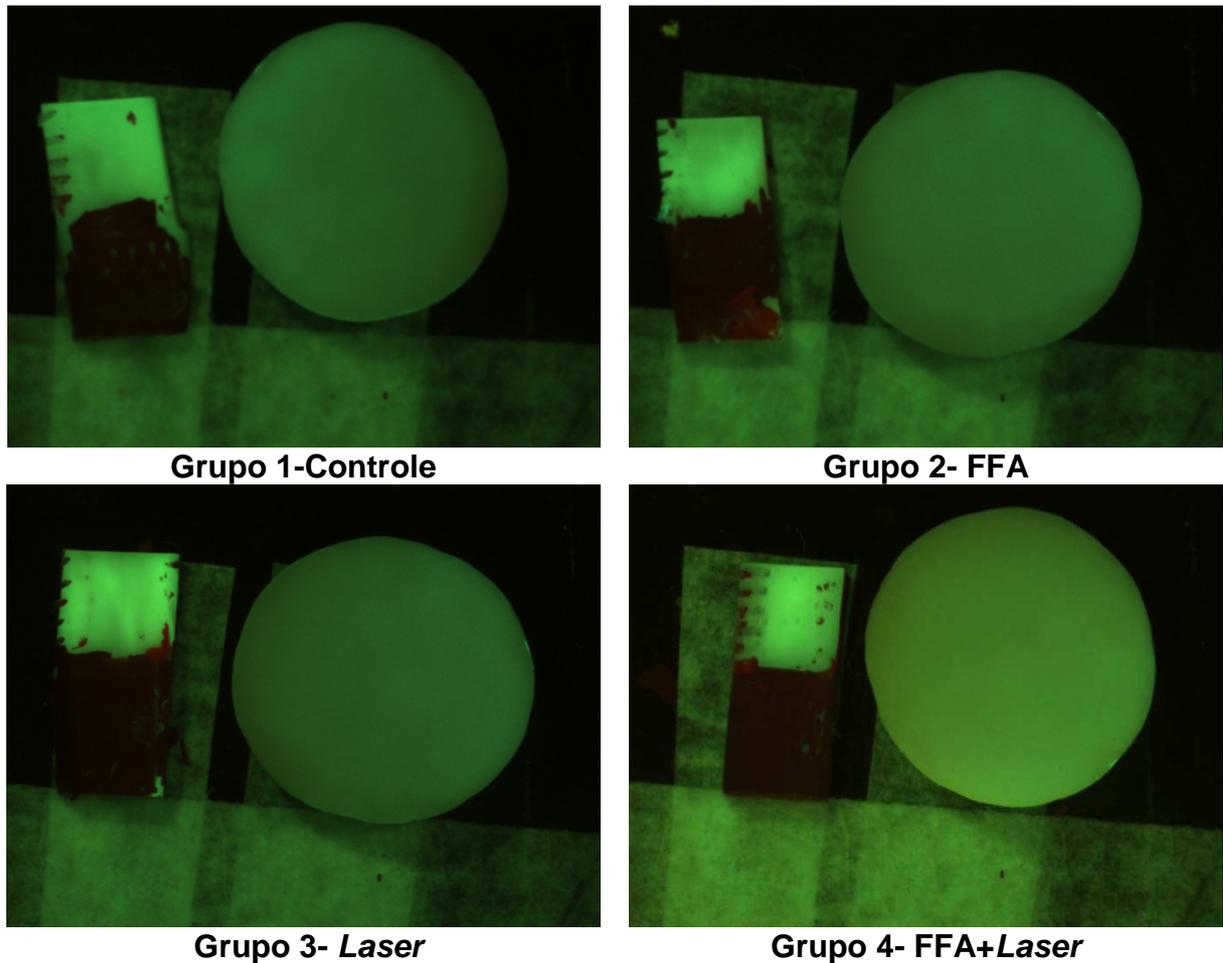


Figura 34: Imagens representativas de fluorescência das amostras de dentina nos diferentes tratamentos aplicados após 15 dias de ciclagem.

A seguir, serão mostradas as análises estatísticas realizadas a partir do processamento das imagens obtidas com o SIF.

Cada grupo de dados foi avaliado quanto a normalidade, independência e homogeneidade conforme descrito no tópico “Análise estatística”.

4.2.1. Análise por SIF- Intensidade da fluorescência com fator de variação "tratamento"

A seguir, os resultados para a variável resposta intensidade de fluorescência com fator de variação tratamento. Na

Tabela 44, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência com 0 dias de ciclagem de erosão/abrasão, ou seja, imediatamente após os tratamentos.

Tabela 44: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes tratamentos. Dados originais.

<i>Intensidade Fluorescência</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
G1- Controle	,9495	,19514	16
G2- FFA	1,0521	,19793	16
G3- Laser	,8611	,17610	16
G4- FFA+Laser	,9314	,13660	16
Total	,9485	,18698	64

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupohomogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como na

Tabela 45.

Tabela 45: Resultados da análise de variância da intensidade de fluorescência no período 0 dias. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	,299 ^a	3	,100	3,137	,032	9,411	,701
Resíduo	1,904	60	,032				
Total	59,784	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 46).

Tabela 46: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para intensidade de fluorescência dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser no período 0 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos		Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
G1- Controle	G2-FFA	-,1027	,06298	,370	-,2691	,0638
	G3-Laser	,0883	,06298	,503	-,0781	,2548
	G4- FFA+Laser	,0181	,06298	,992	-,1484	,1845
G2-FFA	G1- Controle	,1027	,06298	,370	-,0638	,2691
	G3-Laser	,1910*	,06298	,018	,0246	,3574
	G4- FFA+Laser	,1207	,06298	,232	-,0457	,2872
G3-Laser	G1- Controle	-,0883	,06298	,503	-,2548	,0781
	G2-FFA	-,1910*	,06298	,018	-,3574	-,0246
	G4- FFA+Laser	-,0703	,06298	,681	-,2367	,0962
G4- FFA+Laser	G1- Controle	-,0181	,06298	,992	-,1845	,1484
	G2-FFA	-,1207	,06298	,232	-,2872	,0457
	G3-Laser	,0703	,06298	,681	-,0962	,2367

Na 34 é possível observar que os grupos controle, laser e FFA+laser são iguais entre si e também que os grupos FFA, controle e FFA+laser são iguais entre si.

Tabela 47 Na Tabela 47 é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência com 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 47: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes tratamentos para 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Intensidade Fluorescência</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
G1- Controle	2,1409	,49775	16
G2- FFA	2,7350	,62133	16
G3- Laser	2,2368	,52358	16
G4- FFA+Laser	2,5358	,61861	16
Total	2,4121	,60345	64

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator, como pode ser observado na Tabela 48.

Tabela 48: Resultados da análise de variância da intensidade de fluorescência no período 5 dias de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	3,582 ^a	3	1,194	3,701	,016	11,103	,779
Resíduo	19,359	60	,323				
Total	395,316	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 49).

Tabela 49: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para intensidade de fluorescência dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser no período 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos	Diferença	Erro padrão	Valor-p	95% Intervalo de confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
G1- Controle	G2-FFA	-,5942*	,20083	,022	-1,1248	-,0635
	G3-Laser	-,0959	,20083	,964	-,6266	,4348
	G4- FFA+Laser	-,3949	,20083	,212	-,9256	,1358
G2-FFA	G1- Controle	,5942*	,20083	,022	,0635	1,1248
	G3-Laser	,4983	,20083	,073	-,0324	1,0290
	G4- FFA+Laser	,1992	,20083	,755	-,3315	,7299
G3-Laser	G1- Controle	,0959	,20083	,964	-,4348	,6266
	G2-FFA	-,4983	,20083	,073	-1,0290	,0324
	G4- FFA+Laser	-,2991	,20083	,450	-,8298	,2316
G4- FFA+Laser	G1- Controle	,3949	,20083	,212	-,1358	,9256
	G2-FFA	-,1992	,20083	,755	-,7299	,3315
	G3-Laser	,2991	,20083	,450	-,2316	,8298

Na Figura 35 é possível observar que os grupos controle, laser e FFA+laser são iguais entre si e também que os grupos FFA, controle e FFA+laser são iguais entre si. Desta maneira, observa-se que apenas o grupo tratado com FFA possibilitou um aumento significativo na intensidade de fluorescência em relação ao grupo controle, enquanto que os demais tratamentos não propiciaram alterações na fluorescência após 5 dias de ciclagem.

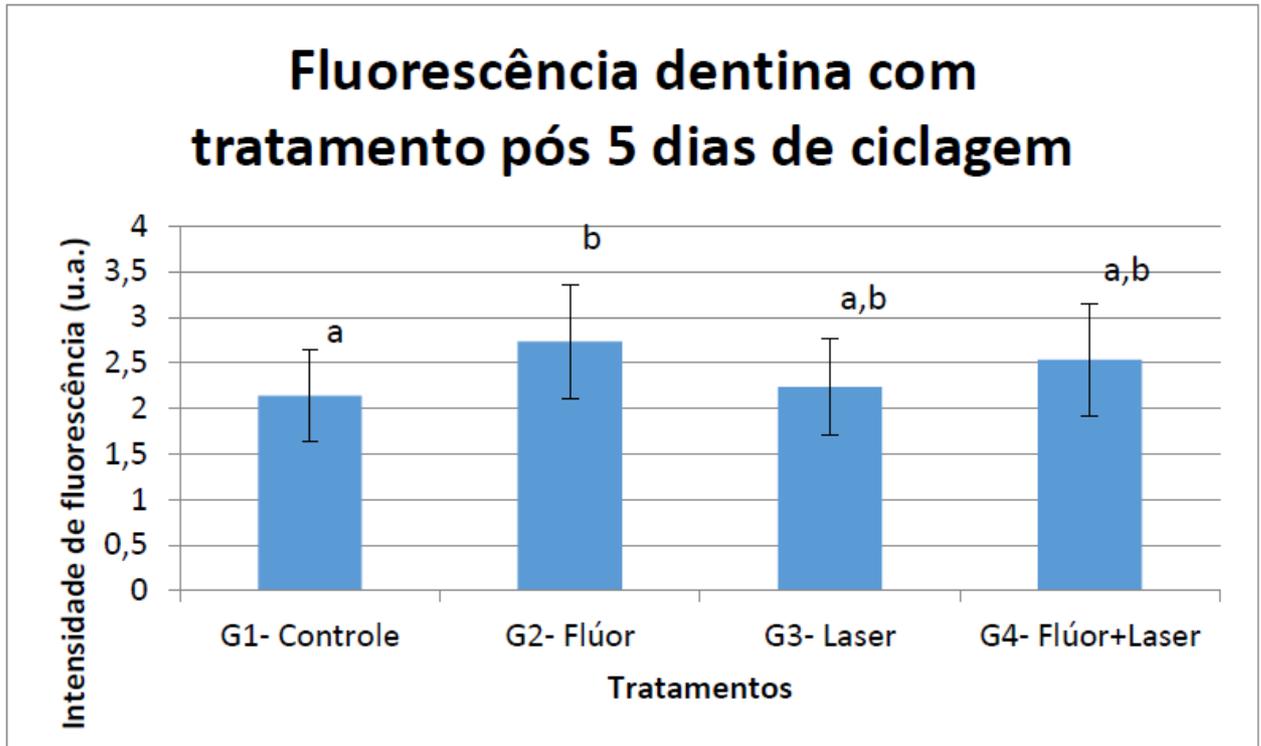


Figura 35: Médias das intensidades de fluorescência das amostras para os diferentes tratamentos após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Na

Tabela 50, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência com 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 50: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes tratamentos para 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Intensidade Fluorescência</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
G1- Controle	3,3318	,27391	16
G2- FFA	2,8207	,64210	16
G3- Laser	2,8155	,55267	16
G4- FFA+Laser	3,0016	,38907	16
Total	2,9924	,51914	64

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator

Tabela 51) seguido do teste de Games-Howell para contrastes.

Tabela 51: Resultados da análise de variância da intensidade de fluorescência no período 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	2,817 ^a	3	,939	3,978	,012	11,934	,811
Resíduo	14,162	60	,236				
Total	590,065	64					

Os resultados do teste de Games-Howell podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 52).

Tabela 52: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Games-Howell para intensidade de fluorescência dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser no período 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos		Diferença	Erro padrão	Valor-p	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
G1- Controle	G2-FFA	,5111*	,17452	,038	,0232	,9990
	G3-Laser	,5163*	,15421	,014	,0880	,9446
	G4- FFA+Laser	,3301*	,11895	,046	,0046	,6557
G2-FFA	G1- Controle	-,5111*	,17452	,038	-,9990	-,0232
	G3-Laser	,0052	,21180	1,000	-,5715	,5818
	G4- FFA+Laser	-,1810	,18769	,771	-,6977	,3357
G3-Laser	G1- Controle	-,5163*	,15421	,014	-,9446	-,0880
	G2-FFA	-,0052	,21180	1,000	-,5818	,5715
	G4- FFA+Laser	-,1861	,16897	,692	-,6486	,2763
G4- FFA+Laser	G1- Controle	-,3301*	,11895	,046	-,6557	-,0046
	G2-FFA	,1810	,18769	,771	-,3357	,6977
	G3-Laser	,1861	,16897	,692	-,2763	,6486

Na Figura 36 é possível observar que o grupo controle se diferencia estatisticamente dos grupos FFA, laser e FFA+laser, enquanto os grupos FFA, laser e FFA+laser são iguais entre si. Ou seja, todos os tratamentos promoveram redução significativa na intensidade de fluorescência após 10 dias de ciclagem em relação ao grupo sem tratamento.

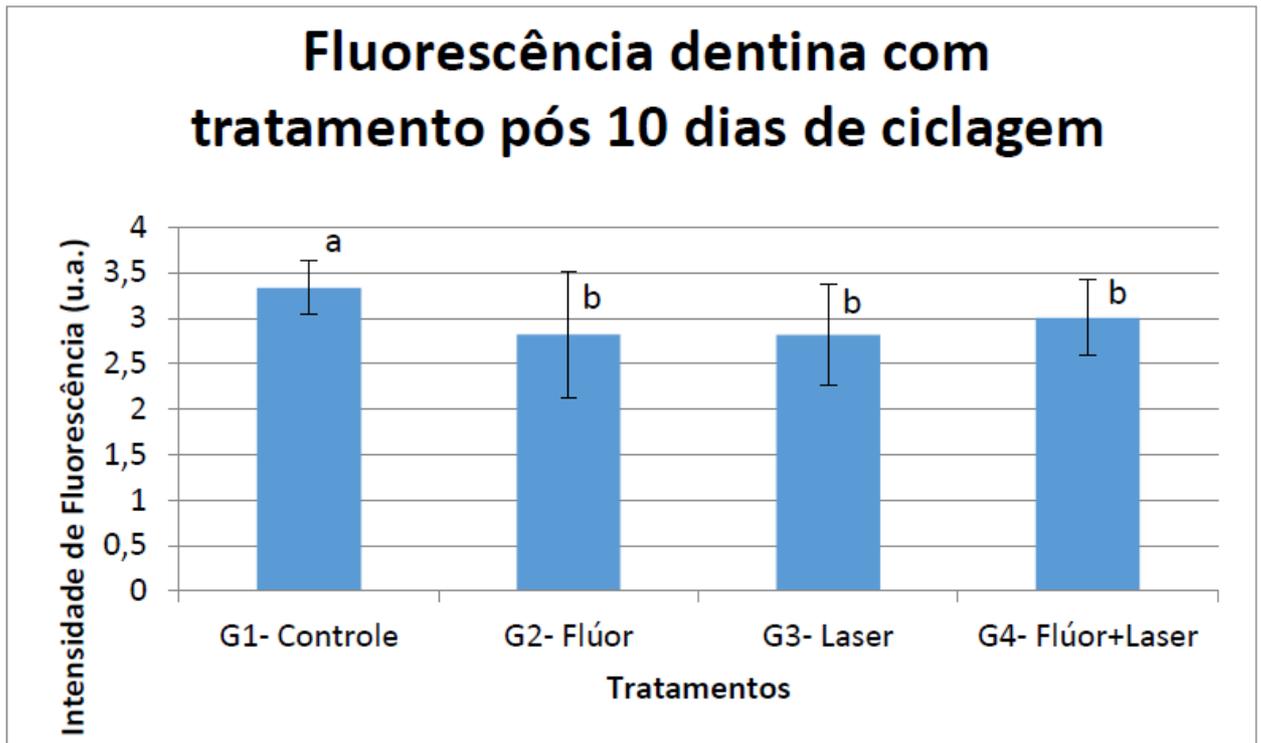


Figura 36: Médias das intensidades de fluorescência das amostras para os diferentes tratamentos após 10 dias de ciclagem de erosão/abrasão. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Games-Howell.

Na Tabela 53, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência com 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão.

Tabela 53: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes tratamentos para 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Intensidade Fluorescência</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
G1- Controle	2,3375	,46869	16
G2- FFA	1,8026	,41750	16
G3- Laser	2,4482	,21571	16
G4- FFA+Laser	1,7585	,53405	16
Total	2,0867	,51943	64

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo homogêneo. Então, foi aplicado o teste ANOVA 1 fator (Tabela 54) e o teste de Tukey para contrastes.

Tabela 54: Resultados da análise de variância da intensidade de fluorescência no período 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Dados originais.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor -p</i>	<i>F crítico</i>	<i>Poder do estudo</i>
Entre grupos	278,679	1	278,679	1536,012	,000	1536,012	1,000
Resíduo	10,886	60	,181				
Total	295,677	64					

Os resultados do teste de Tukey podem ser observados na tabela abaixo (Tabela 55).

Tabela 55: Comparações múltiplas realizadas pelo teste de Tukey para intensidade de fluorescência dos grupos controle, FFA, laser e FFA+laser no período 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Grupos	Diferença	Erro padrão	Valor -p	95% Intervalo de confiança		
				Limite inferior	Limite superior	
G1- Controle	G2-FFA	,5348*	,15692	,010	,1078	,9618
	G3-Laser	-,1108	,12899	,826	-,4702	,2487
	G4- FFA+Laser	,5789*	,17764	,014	,0955	1,0624
G2-FFA	G1- Controle	-,5348*	,15692	,010	-,9618	-,1078
	G3-Laser	-,6456*	,11748	,000	-,9713	-,3199
	G4- FFA+Laser	,0441	,16947	,994	-,4182	,5065
G3-Laser	G1- Controle	,1108	,12899	,826	-,2487	,4702
	G2-FFA	,6456*	,11748	,000	,3199	,9713
	G4- FFA+Laser	,6897*	,14399	,001	,2863	1,0932
G4- FFA+Laser	G1- Controle	-,5789*	,17764	,014	-1,0624	-,0955
	G2-FFA	-,0441	,16947	,994	-,5065	,4182
	G3-Laser	-,6897*	,14399	,001	-1,0932	-,2863

Na Figura 37 é possível observar que os grupos controle e laser são iguais entre si, e ainda, os grupos FFA e FFA+laser também são iguais entre si. Desta forma, têm-se que a aplicação tópica de FFA, quando associada ou não à irradiação laser, promoveu redução significativa na intensidade de fluorescência após 15 dias e ciclagem, enquanto que a irradiação laser isoladamente não altera a fluorescência da dentina neste período.

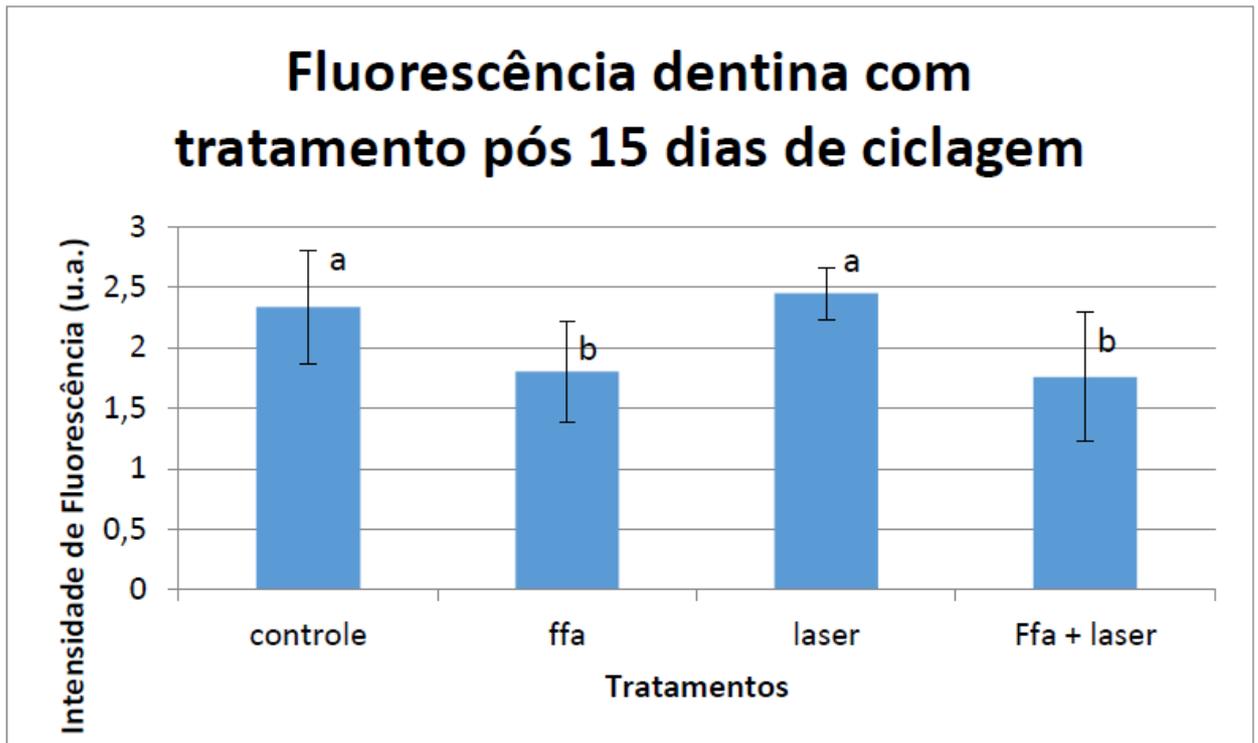


Figura 37: Médias das intensidades de fluorescência das amostras para os diferentes tratamentos após 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

4.2.2. Análise por SIF- Intensidade da fluorescência com fator de variação “tempo de ciclagem”

A seguir, os resultados para a variável resposta intensidade de fluorescência com fator de variação tempo de ciclagem. Na

Tabela 56, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência para o grupo controle.

Tabela 56: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes períodos de ciclagem para o grupo controle. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Dados originais.

<i>Tempos experimentais</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
Antes tratamento	,9495	,19514	16
Pós tratamento	,9495	,19514	16
5 dias	2,1409	,49775	16
10 dias	3,3318	,27391	16
15 dias	2,3375	,46869	16
Total	1,9418	,97333	80

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis como pode ser observado na Tabela 57 seguido do teste de contrastes Student-Newman-Keuls Tabela 58.

Tabela 57: Resultados do teste não paramétrico de Kruskal Wallis para comparação entre os tratamentos e períodos de ciclagem do grupo controle. Dados originais

Resultados do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis		
	Grupos	Postos médios
H=66,1587	Antes do tratamento	16.7500
	Controle pós tratamento	16.7500
Graus de liberdade=4 (p) Kruskal-Wallis = 0.0000	5 dias	46.8750
	10 dias	71.5000
	15 dias	50.6250

Tabela 58: Comparações entre os tratamentos e períodos de ciclagem realizadas no grupo controle pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Dados originais.

Comparações Student-Newman-Keuls	Dif. postos	p-valor
Grupos (antes tratamento e pós tratamento) =	0,0000	1,0000
Grupos (antes tratamento e 5 dias ciclagem) =	30,1250	0,0002*

Grupos (antes tratamento e 10 dias ciclagem) =	54,7500	<0,0001*
Grupos (antes tratamento e 15 dias ciclagem) =	33,8750	<0,0001*
Grupos (pós tratamento e 5 dias ciclagem) =	30,1250	0,0002*
Grupos (pós tratamento e 10 dias ciclagem) =	54,7500	<0,0001*
Grupos (pós tratamento e 15 dias de ciclagem) =	33,8750	<0,0001*
Grupos (5 dias ciclagem e 10 dias de ciclagem) =	24,6250	0,0027*
Grupos (5 dias ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	3,7500	0,6481
Grupos (10 dias de ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	20,8750	0,0111*

A partir da

Tabela 59 e na Figura 38, é possível observar que os grupos Antes tratamento e após tratamento são iguais entre si, os grupos 5 e 15 dias de ciclagem também são iguais entre si e apenas o grupo 10 dias de ciclagem se diferencia estatisticamente de todos os outros.

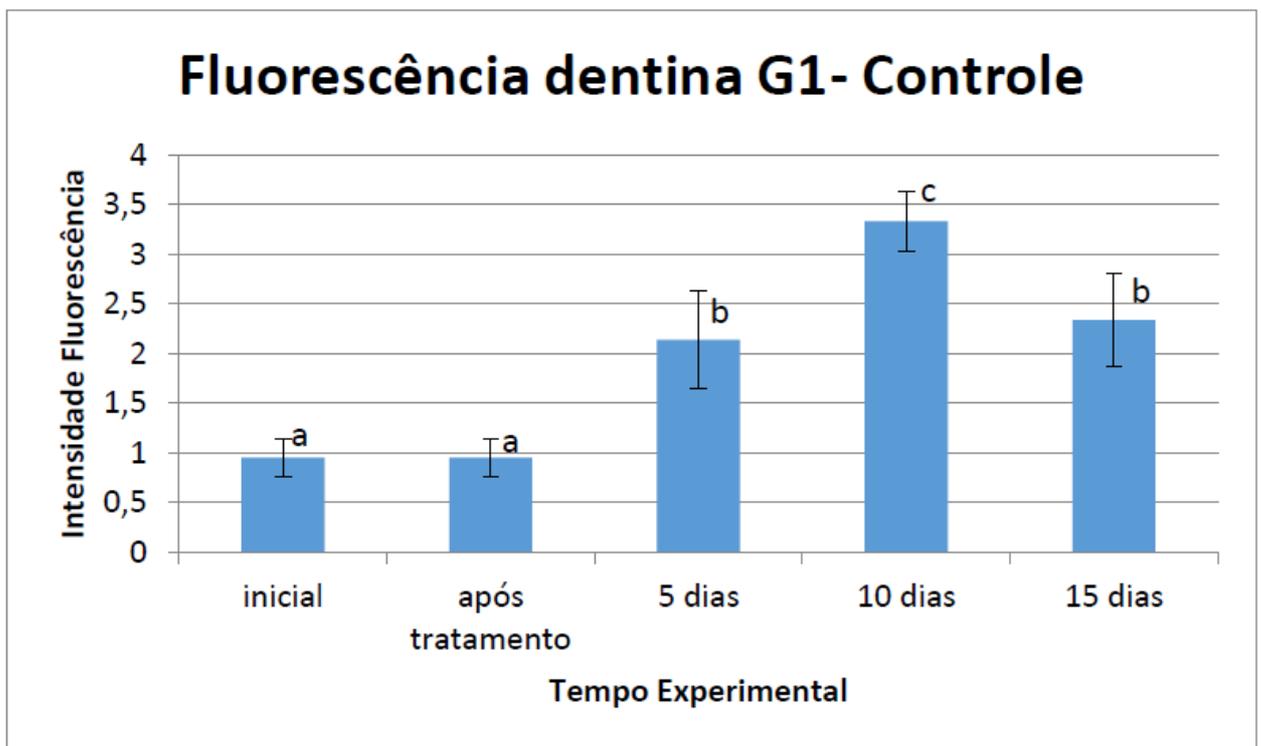


Figura 38: Média das intensidades de fluorescência obtidas para o grupo controle de acordo com o período de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

Na

Tabela 59, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência para o grupo FFA.

Tabela 59: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes períodos de ciclagem para o grupo FFA. Dados originais.

<i>Tempos experimentais</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
Antes tratamento	,9495	,19514	16
Pós tratamento	1,0521	,19793	16
5 dias	2,7350	,62133	16
10 dias	2,8207	,64210	16
15 dias	1,8026	,41750	16
Total	1,8720	,91758	80

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis como pode ser observado na Tabela 65 seguido do teste de contrastes Student-Newman-Keuls na Tabela 61.

Tabela 60: Resultados do teste não paramétrico de Kruskal Wallis para comparação entre os tratamentos e períodos de ciclagem do grupo FFA. Dados originais

Resultados do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis		
	Grupos	Postos médios
H= 62,2710	Antes do tratamento	14,2500
	Controle pós tratamento	19,8750
Graus de liberdade=4 (p) Kruskal-Wallis = 0.0000	5 dias	61,8750
	10 dias	63,3750
	15 dias	43,1250

Tabela 61: Comparações entre os tratamentos e períodos de ciclagem realizadas no grupo FFA pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Dados originais.

Comparações Student-Newman-Keuls	Dif. postos	p-valor
Grupos (antes tratamento e pós tratamento) =	5,6250	0,4936
Grupos (antes tratamento e 5 dias ciclagem) =	47,6250	< 0,0001*
Grupos (antes tratamento e 10 dias ciclagem) =	49,1250	< 0,0001*
Grupos (antes tratamento e 15 dias ciclagem) =	28,8750	0,0004*
Grupos (pós tratamento e 5 dias ciclagem) =	42,0000	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 10 dias ciclagem) =	43,5000	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 15 dias de ciclagem) =	23,2500	0,0047*
Grupos (5 dias ciclagem e 10 dias de ciclagem) =	1,5000	0,8551
Grupos (5 dias ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	18,7500	0,0225*
Grupos (10 dias de ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	20,2500	0,0137*

A partir da Tabela 61 e da Figura 39, é possível observar que os grupos Antes tratamento e após tratamento são iguais entre si, os grupos 5 e 10 dias de ciclagem também são iguais entre si e apenas o grupo 15 dias de ciclagem se diferencia estatisticamente de todos os outros.

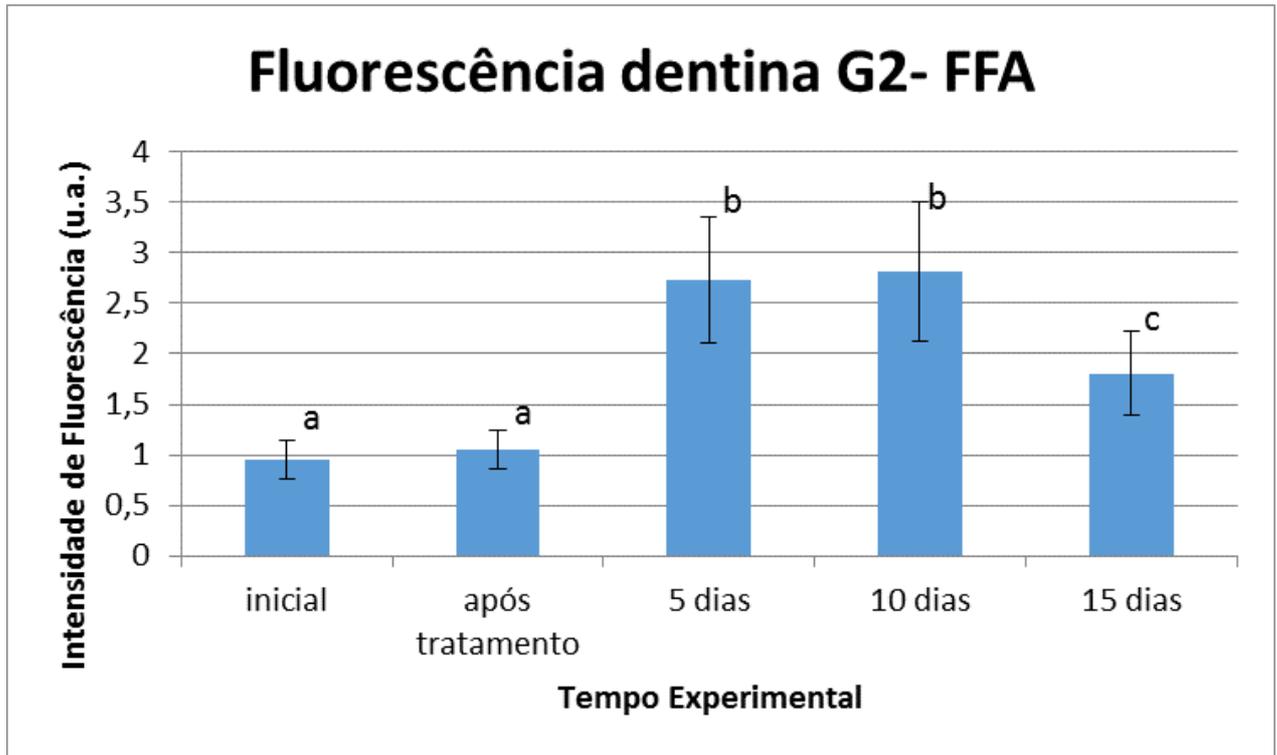


Figura 39: Média das intensidades de fluorescência obtidas para o grupo FFA de acordo com o período de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

Na Tabela 62, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência para o grupo laser.

Tabela 62: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes períodos de ciclagem para o grupo laser. Dados originais.

<i>Tempos experimentais</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
Antes tratamento	,9495	,19514	16
Pós tratamento	,8611	,17610	16
5 dias	2,2368	,52358	16
10 dias	2,8155	,55267	16
15 dias	2,4482	,21571	16
Total	1,8622	,88641	80

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis como pode ser observado na Tabela 63 seguido do teste de contrastes Student-Newman-Keuls na Tabela 64.

Tabela 63: Resultados do teste não paramétrico de Kruskal Wallis para comparação entre os tratamentos e períodos de ciclagem do grupo laser. Dados originais.

Resultados do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis		
	Grupos	Postos médios
H= 61,0621	Antes do tratamento	18,0625
	Controle pós tratamento	15,0625
Graus de liberdade=4 (p) Kruskal-Wallis = 0.0000	5 dias	48,5000
	10 dias	65,5000
	15 dias	55,3750

Tabela 64: Comparações entre os tratamentos e períodos de ciclagem realizadas no grupo laser pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Dados originais.

Comparações Student-Newman-Keuls	Dif. postos	p-valor
Grupos (antes tratamento e pós tratamento) =	3,0000	0,7150
Grupos (antes tratamento e 5 dias ciclagem) =	30,4375	0,0002*
Grupos (antes tratamento e 10 dias ciclagem) =	47,4375	< 0,0001*
Grupos (antes tratamento e 15 dias ciclagem) =	37,3125	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 5 dias ciclagem) =	33,4375	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 10 dias ciclagem) =	50,4375	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 15 dias de ciclagem) =	40,3125	< 0,0001*
Grupos (5 dias ciclagem e 10 dias de ciclagem) =	17,0000	0,0385*
Grupos (5 dias ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	6,8750	0,4027
Grupos (10 dias de ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	10,1250	0,2178

A partir da Tabela 63 e da Figura 40, é possível observar que os grupos Antes tratamento e após tratamento são iguais entre si, os grupos 5 e 15 dias de ciclagem também são iguais entre si e apenas o grupo 15 dias de ciclagem se diferencia estatisticamente de todos os outros.

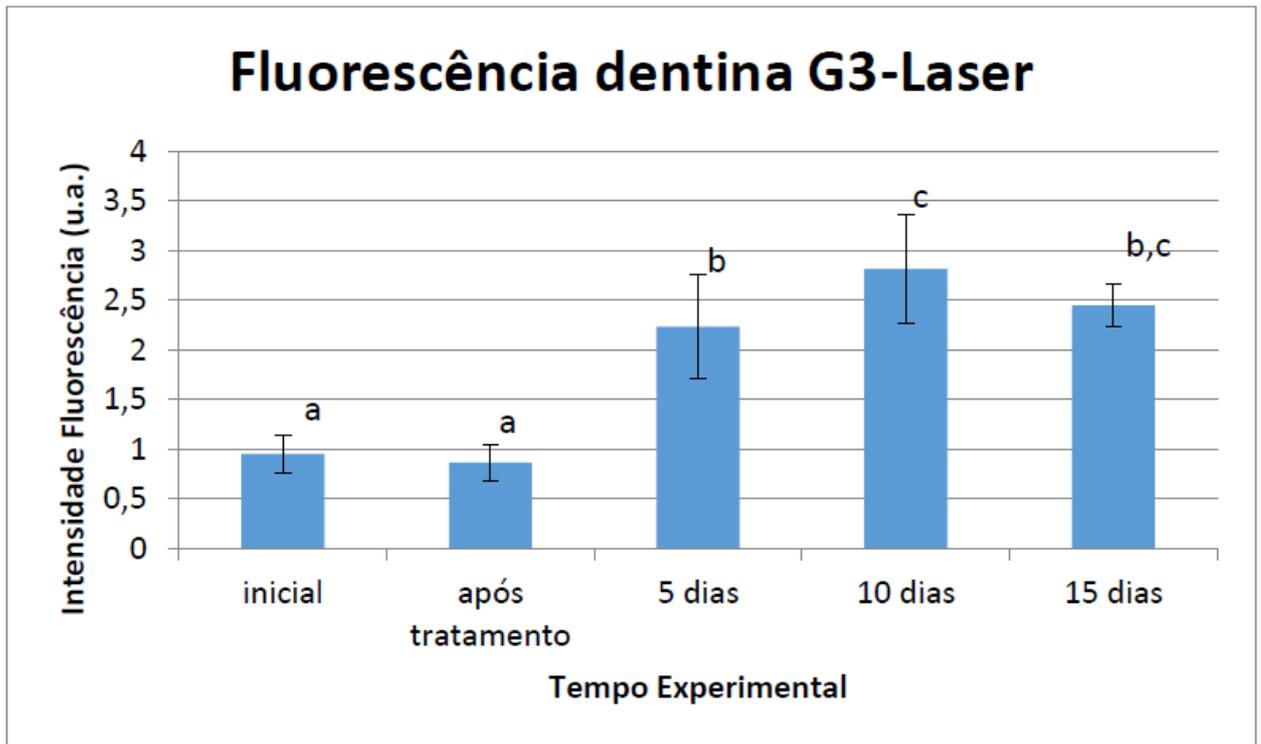


Figura 40: Média das intensidades de fluorescência obtidas para o grupo laser de acordo com o período de ciclagem. As barras indicam erro padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

Na Tabela 65, é possível observar a estatística descritiva do grupo de dados de intensidade de fluorescência para o grupo FFA+laser.

Tabela 65: Estatística descritiva para a variável resposta intensidade de fluorescência nos diferentes períodos de ciclagem para o grupo FFA+laser. Dados originais.

<i>Tempos experimentais</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Número de amostras</i>
Antes tratamento	,9495	,19514	16
Pós tratamento	,9314	,13660	16
5 dias	2,5358	,61861	16
10 dias	3,0016	,38907	16
15 dias	1,7585	,53405	16
Total	1,8354	,93104	80

Foi feito o teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e resultou em um grupo não homogêneo. Então, foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis como pode ser observado na

Tabela 66 seguido do teste de contrastes Student-Newman-Keuls na Tabela 67.

Tabela 66: Resultados do teste não paramétrico de Kruskal Wallis para comparação entre os tratamentos e períodos de ciclagem do grupo FFA+laser. Dados originais.

Resultados do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis		
	Grupos	Postos médios
H= 62,7194 Graus de liberdade=4 (p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Antes do tratamento	17,6875
	Controle pós tratamento	17,4375
	5 dias	58,1250
	10 dias	67,9375
	15 dias	41,3125

Tabela 67: Comparações entre os tratamentos e períodos de ciclagem realizadas no grupo FFA+laser pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. Dados originais.

Comparações Student-Newman-Keuls	Dif. postos	p-valor
Grupos (antes tratamento e pós tratamento) =	0,2500	0,9757
Grupos (antes tratamento e 5 dias ciclagem) =	40,4375	< 0,0001*
Grupos (antes tratamento e 10 dias ciclagem) =	50,2500	< 0,0001*

Grupos (antes tratamento e 15 dias ciclagem) =	23,6250	0,0040*
Grupos (pós tratamento e 5 dias ciclagem) =	40,6875	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 10 dias ciclagem) =	50,5000	< 0,0001*
Grupos (pós tratamento e 15 dias de ciclagem) =	23,8750	0,0037*
Grupos (5 dias ciclagem e 10 dias de ciclagem) =	9,8125	0,2323
Grupos (5 dias ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	16,8125	0,0407*
Grupos (10 dias de ciclagem e 15 dias de ciclagem) =	26,6250	0,0012*

A partir da Tabela 67 e da Figura 41, é possível observar que os grupos Antes tratamento e após tratamento são iguais entre si, os grupos 5 e 10 dias de ciclagem também são iguais entre si e apenas o grupo 15 dias de ciclagem se diferencia estatisticamente de todos os outros.

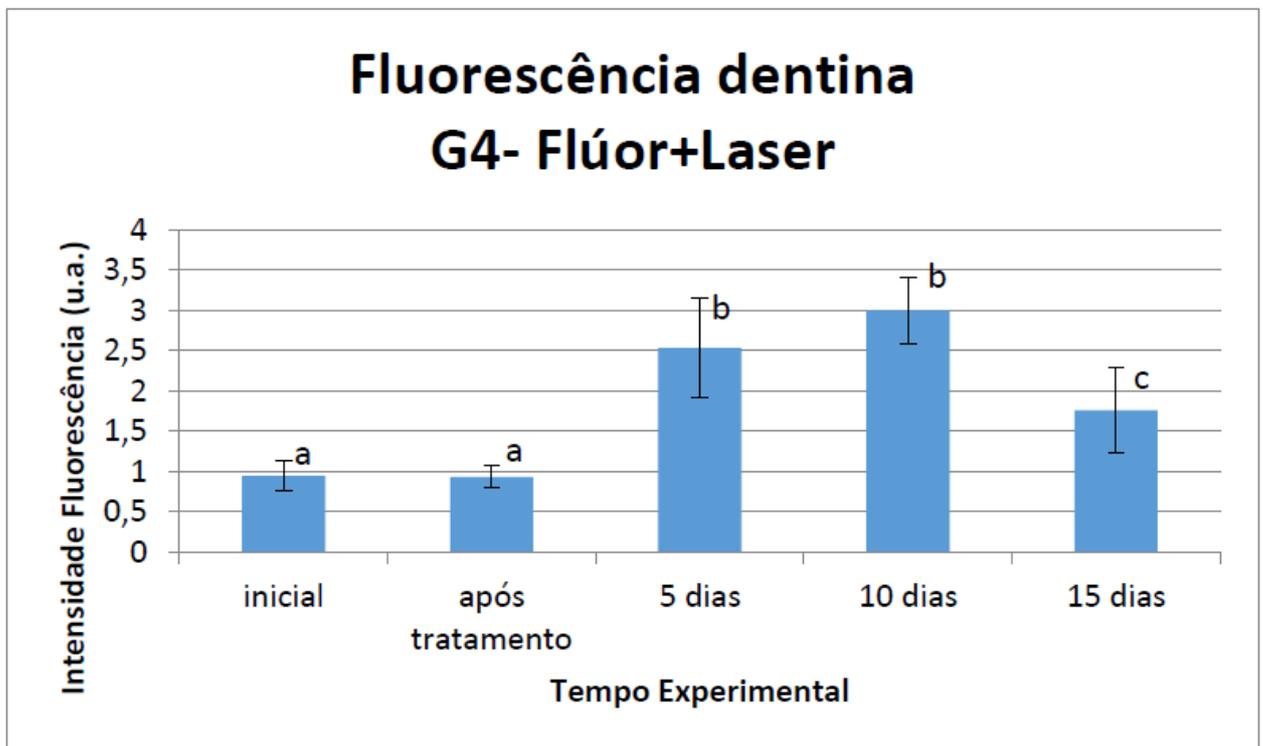


Figura 41: Média das intensidades de fluorescência obtidas para o grupo FFA+laser de acordo com o período de ciclagem. As barras indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

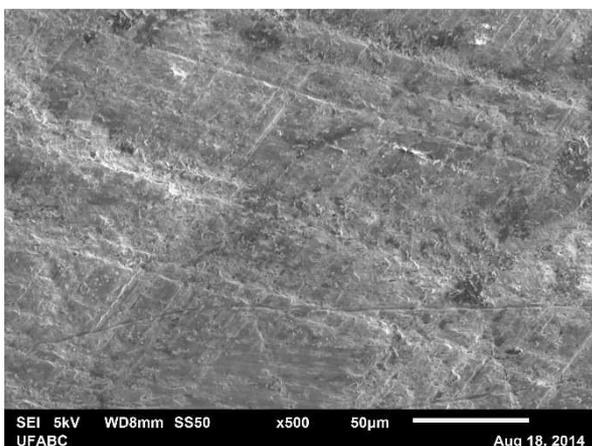
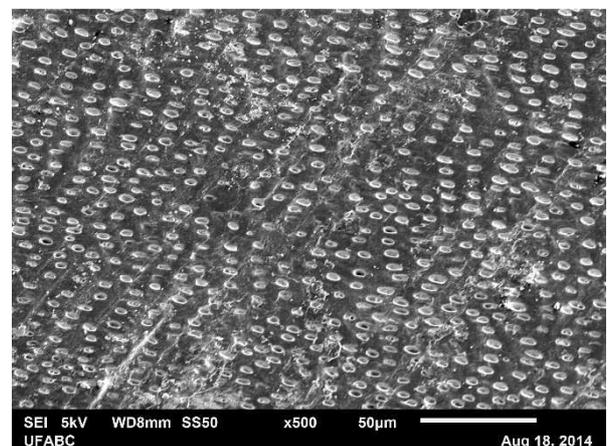
Assim, resumindo-se os efeitos obtidos no decorrer da ciclagem de erosão/abrasão, observa-se que, em todos os grupos experimentais, ocorre um aumento significativo da fluorescência da dentina após 5, 10 e 15 dias de ciclagem

em relação aos momentos inicial e após tratamento. Este padrão obtido é similar para todos os tratamentos propostos.

4.3. Análise morfológica

Na Figura 42 e na Figura 43 são mostradas as imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras imediatamente após o tratamento, em diferentes magnificações. No grupo controle, é possível observar uma superfície regular, com algumas ranhuras provenientes do lixamento da amostra; também os túbulos dentinários encontram-se fechados, recobertos por uma camada de esfregaço formada decorrente do próprio lixamento das amostras. No grupo com aplicação tópica de FFA, é também observada uma superfície regular; contudo, observam-se os túbulos dentinários abertos e ausência da camada de esfregaço.

No grupo laser, foi observada uma superfície com ausência das ranhuras provenientes do lixamento, assim como com ausência da camada de esfregaço. Contudo, observou-se a presença de elevações e depressões entremeadas por orifícios, com aspecto característico de fusão e ressolidificação da dentina. Os túbulos aparecem obliterados por esta camada, não sendo detectados, também, sinais de trincas ou carbonizações nestas amostras. Por fim, no grupo FFA+laser foi observada uma superfície irregular com elevações e depressões similares a um processo de ablação, com ausência da camada de esfregaço decorrente de lixamento; contudo, observa-se que os túbulos dentinários encontram-se abertos.

**G1- Controle****G2-FFA**

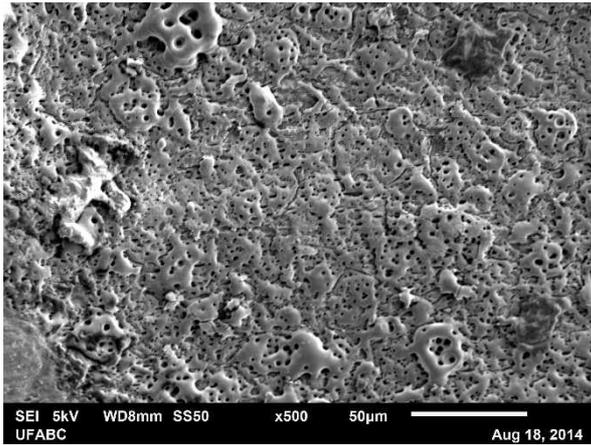
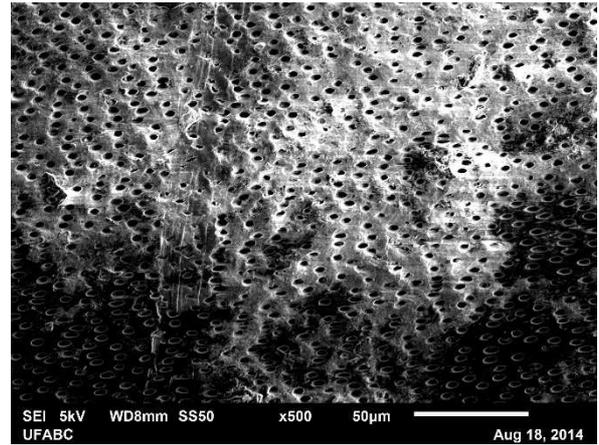
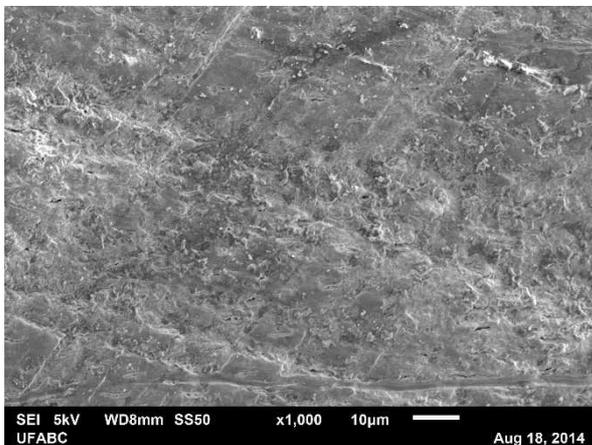
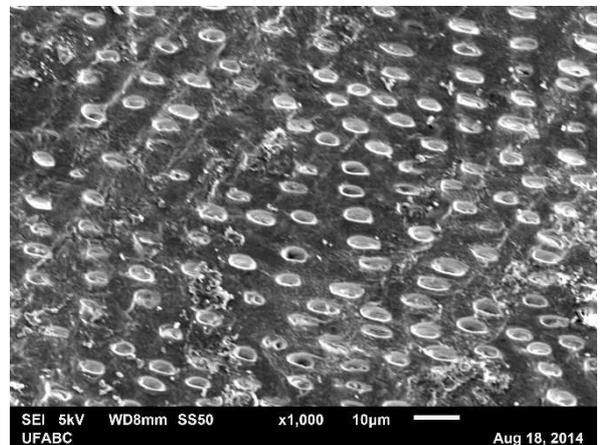
**Laser****FFA+Laser**

Figura 42: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura de dentina bovina após os diferentes tratamentos aplicados. Aumento original = 500 x.

**Controle****FFA**

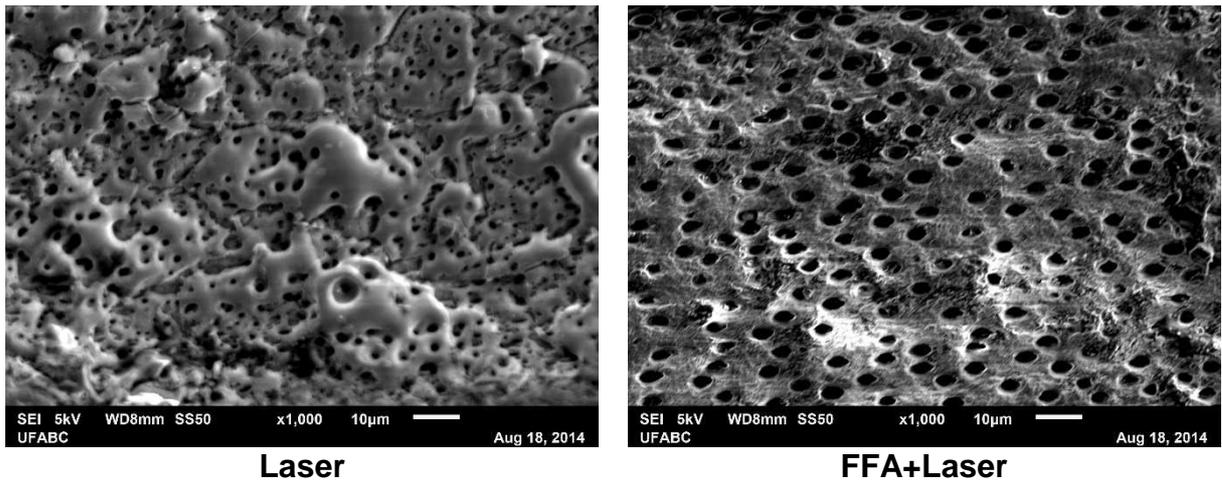
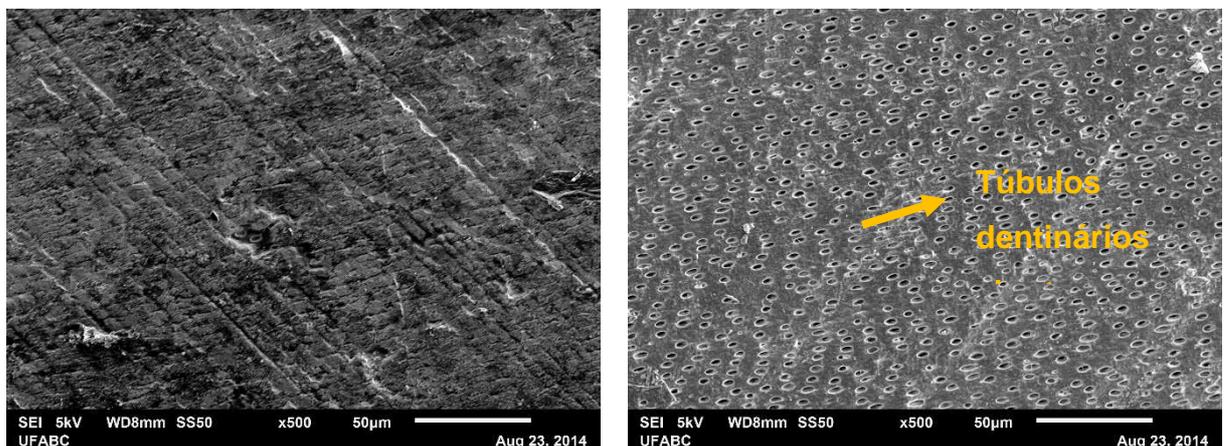
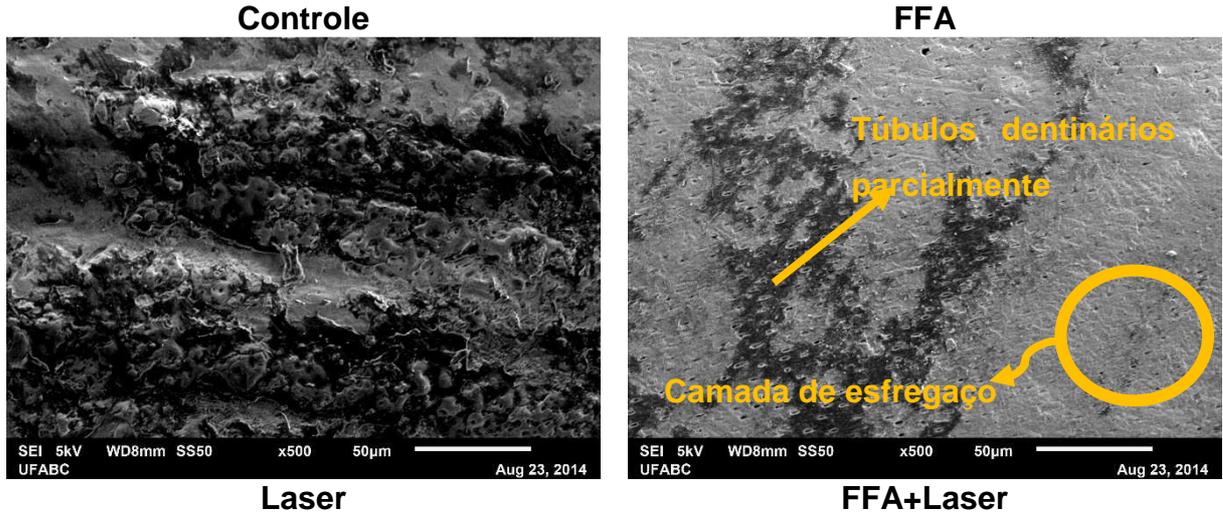


Figura 43: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura de dentina bovina após os diferentes tratamentos aplicados. Aumento original = 1000 x.

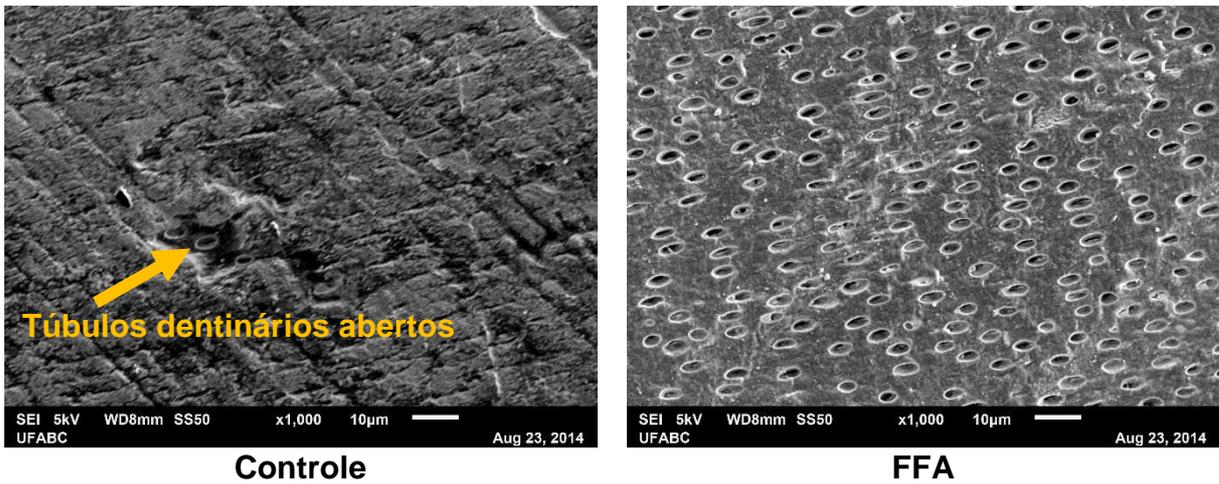
Na Figura 44 e Figura 45 são mostradas as imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. No grupo controle, observa-se a formação de uma camada uniforme de esfregaço, aparentemente mais espessa que a encontrada imediatamente após os tratamentos, a qual recobre parcialmente (Figura 45– seta) ou totalmente os túbulos dentinários. No grupo FFA, é possível observar ainda a presença da superfície regular, com ausência de camada de esfregaço e com os túbulos dentinários parcialmente ou totalmente abertos. No grupo laser, é observada uma superfície irregular, contendo a camada com elevações, depressões e orifícios característicos de fusão e ressolidificação da dentina, entremeados por uma camada de esfregaço dentinário. No grupo FFA+laser, os túbulos dentinários encontram-se parcialmente abertos em algumas áreas; porém, em outras regiões há uma camada homogênea de esfregaço que os recobre.





Laser **FFA+Laser**

Figura 44: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura de dentina bovina de diferentes tratamentos aplicados após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Aumento original = 500 x



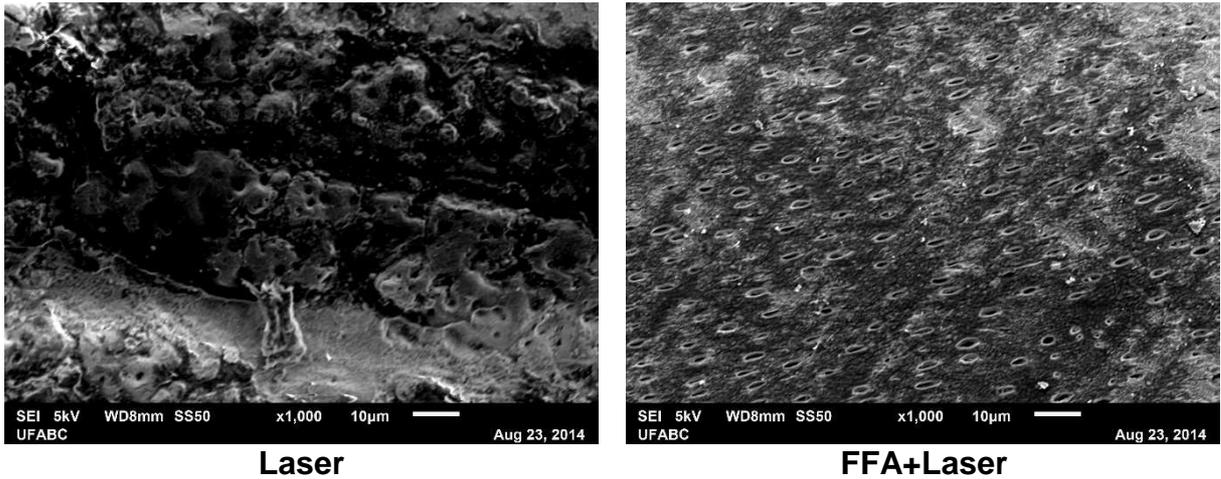


Figura 45: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura de dentina bovina de diferentes tratamentos aplicados após 5 dias de ciclagem de erosão/abrasão. Aumento original = 1000x

Não foi possível realizar a aquisição das imagens dos grupos de 10 e 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão, tendo em vista que houve a formação de espessa camada de esfregaço, composta provavelmente por resíduos de creme dental e dentina amolecida, em todas as amostras.

5. DISCUSSÃO

Tem sido observado um grande aumento da prevalência de erosão dentária nas últimas décadas, principalmente relacionadas aos hábitos alimentares¹⁰, rotina atribulada e estresse. Além disso, é observado um aumento da prevalência⁷⁹ destas lesões em superfícies radiculares, tendo em vista o envelhecimento da população.

A dentina é um tecido heterogêneo (50% em volume de mineral- apatita e 50% em volume de matriz orgânica- colágeno)⁸⁰ e mais susceptível à perda mineral, tendo em vista que seu pH crítico é 6,5 enquanto no esmalte o pH crítico é 5,5. Além do pH crítico na dentina ser maior do que no esmalte, a progressão de qualquer lesão na dentina é muito mais rápida do que no esmalte por possuir menor conteúdo mineral.

O diagnóstico precoce das lesões de erosão dentinária é importante por uma série de motivos: pode-se evitar a hipersensibilidade dentinária, a perda progressiva do tecido e, conseqüentemente, tratamentos mais complexos. Idealmente o diagnóstico precisaria acontecer antes de ocorrer qualquer perda estrutural, o que não acontece. Assim, são necessários métodos que acompanhem a progressão da lesão e/ou que possibilitem a paralisação da mesma quando diagnosticada precocemente.

Os métodos tradicionais de diagnóstico apresentam limitações técnicas que podem não propiciar o diagnóstico da erosão no seu início. Então propõe-se técnicas auxiliares neste diagnóstico, e as técnicas ópticas, pela experiência que se tem com cárie^{55; 56; 57; 58; 60; 62; 63; 68; 69; 70}, apresentam-se promissoras também para erosão. As técnicas ópticas atualmente estudadas para o diagnóstico de cárie são as baseadas em fluorescência, por exemplo o equipamento QLF e também o OCT^{34; 58; 59}.

No presente estudo, foi possível analisar e quantificar a área de desmineralização inicial causada pelo processo de ciclagem e abrasão por OCT, assim como monitorar a progressão das lesões em um período de até 15 dias. A técnica de OCT já foi empregada na literatura para avaliação de erosão induzida de forma mais agressiva^{34; 58; 59}, sendo empregada com sucesso no monitoramento destas lesões. O presente estudo corrobora estes achados e demonstra a possibilidade de monitoramento do processo de erosão e abrasão empregando-se protocolo *in vitro* próximo à uma condição clínica. O protocolo do desafio empregado no presente estudo foi escolhido por estar mais próximo de uma aplicação clínica

pois, de acordo com dados epidemiológicos do IBGE^{11; 12}, o consumo de refrigerantes pela população brasileira tem aumentado muito nos últimos anos. Isso implica em intensificar os estudos na erosão dentária causada por bebidas.

Neste estudo, foi possível evidenciar que, em 5 dias de ciclagem, ocorreu uma perda de $26344,8\mu\text{m}^2$ de superfície e uma profundidade média de lesão formada de $9,78\mu\text{m}$ nas amostras não submetidas a qualquer tratamento, o que corrobora com achados da literatura que empregaram protocolos de ciclagem similares (com exposição ao refrigerante à base de ácido cítrico 4 vezes ao dia) e sem abrasão, onde foi encontrada uma profundidade de $1,2\mu\text{m}$ de desgaste dentinário para um único dia de ciclagem (Magalhães et al., 2008)²⁸. Já em outro estudo com erosão em esmalte, no qual foi empregado um protocolo de indução de erosão parecido com o deste trabalho, foi relatado um desgaste de $4,1\mu\text{m}$ de profundidade do esmalte para 5 dias de ciclagem⁸¹. No presente trabalho foi encontrado maior desgaste; contudo, deve-se ressaltar que trata-se de substrato dentinário, o qual apresenta maior potencial de desmineralização que o esmalte. Desta maneira, considera-se que os desgastes promovidos encontram-se condizentes com a literatura.

Após 10 e 15 dias de ciclagem, também foi possível determinar as diferenças tanto em profundidade quanto em área de desmineralização por OCT, o que demonstra que a técnica é viável para monitoramento da progressão das lesões de erosão. Na literatura, são raros os trabalhos de monitoramento de erosão com OCT⁸², mas observa-se que a técnica pode ser utilizada para o monitoramento da progressão de lesões de cárie^{52; 53; 54; 57; 59; 60}. Em um trabalho recente (Marcauteanu et al., 2014)⁸² foi realizado o monitoramento da evolução de uma lesão de erosão em esmalte humano e foi concluído que o OCT foi capaz de detectar um volume de até $2352\mu\text{m}^3$ e também é sugerido pelos autores a construção de um sensor que possibilite o uso clínico para a prática *in vivo*. É importante enfatizar que foi possível evidenciar lesões de erosão em apenas 5 dias de ciclagem com OCT, mostrando a sensibilidade desta técnica para detecção e sabendo-se que a resolução do equipamento utilizado é de $4\mu\text{m}$ ⁶⁰ e também que mesmo já existindo equipamentos mais desenvolvidos tecnologicamente como o utilizado no estudo de Marcauteanu⁸², o presente estudo possibilitou a detecção de lesões de erosão/abrasão em seus estágios iniciais. Sendo assim, o OCT tem a resolução necessária para um futuro uso na clínica para a utilização de detecção de lesões em estágios iniciais. Porém,

ainda não há equipamento com detector adequado para o uso na clínica odontológica.

A resolução do OCT permitiu que os efeitos dos tratamentos realizados neste trabalho fossem visualizados. Foi possível evidenciar diferenças significantes entre os grupos tratados com FFA ou apenas irradiados com *laser*, sendo que o *laser* foi capaz de diminuir estatisticamente a progressão da lesão de erosão/abrasão. Atualmente, a única técnica que possibilita tal análise, é a perfilometria que consiste em um equipamento de bancada e requer preparo das amostras, o que dificulta a sua aplicação na clínica. Já existe o desenvolvimento dos sensores adequados para que o OCT possa ser utilizado na clínica, como pode ser visto no trabalho de (Mota, 2010)⁸³ Dessa forma, pode-se dizer que o OCT é uma técnica de resolução microscópica com possibilidade de miniaturização para que possa ser aplicado na clínica.

O SIF é um sistema baseado no fenômeno da fluorescência. Existem estudos na literatura envolvendo o uso de equipamentos comercialmente disponíveis que se utilizam da fluorescência para auxiliar no diagnóstico de lesões dos tecidos duros, tais como QLF (*Quantitative Light-induced Fluorescence*)^{58; 68}, DIAGNOdent⁶⁹ e Soprolife^{®70}. O QLF é um equipamento utilizado clinicamente para avaliação de cárie, assim como tem sido estudado para avaliação de erosão dentária em esmalte *in vitro*. A grande vantagem do SIF sobre o QLF é o custo e também a possibilidade de utilizar o filtro mais adequado a análise pretendida. Neste trabalho o SIF foi utilizado para a avaliação dos tratamentos efetuados e também da progressão da lesão de erosão. A fluorescência detecta mudanças químicas na estrutura dentinária, assim, quando FFA é aplicado à superfície dentinária ocorre a formação de fluorapatita e também de CaF_2 ²³ o que pode provocar mudanças na intensidade da fluorescência mensurada. No entanto, o FFA pode ter sua concentração diminuída em até 10 vezes em relação a sua concentração inicial após 48h da sua aplicação⁴⁴, o que também pode influenciar na intensidade da fluorescência emitida. A irradiação com laser também provoca mudanças químicas e estruturais na superfície dentinária, o *laser* em alta intensidade promove um efeito térmico localizado quando a sua irradiação é absorvida pelo tecido duro dental. Esse efeito provoca modificações químico-estruturais como formação de novas fases cristalográficas nos tecidos duros dentais que dependem da temperatura superficial atingida³³. A matriz orgânica do esmalte e da dentina é eliminada com temperaturas

inferiores a 350°C; entretanto, a desnaturação de proteína é observada após a temperatura atingir os 45°C.³³ Os constituintes da matriz mineral são mais estáveis termicamente. A eliminação de carbonato começa a ser observada após aquecimento a 100°C, sendo quase totalmente eliminado após aquecimento a 1100°C, temperatura onde ocorre a formação de novas estruturas cristalográficas, tais como fosfato de tricálcico na fase α e β e fosfato tetracálcico³³. Essas mudanças também podem provocar alterações na intensidade da fluorescência emitida.

Dessa forma, foi observado que houve aumento significativo da fluorescência da dentina após 5, 10 e 15 dias de ciclagem em relação aos momentos inicial e após tratamento e este padrão obtido foi similar para todos os tratamentos propostos. A partir disso, é possível observar que o SIF detecta alterações na superfície dentinária pois a medida que a lesão de erosão/abrasão progrediu, a intensidade da fluorescência também aumentou. Isso pode ser explicado pela maior exposição da hidroxiapatita decorrente da desmineralização.

No entanto, utilizando-se o SIF, não foi possível quantificar a desmineralização causada pelo protocolo utilizado.

Como dito anteriormente, o laser provoca mudanças químicas e estruturais na superfície dentinária, o que aumenta a resistência do tecido à desmineralização³³. O FFA também age modificando quimicamente a estrutura dentinária²³ no entanto não é um tratamento preventivo duradouro, já que sua concentração se reduz em até 10 vezes após 48h da sua aplicação⁴⁴ o que motivou a busca de outros métodos preventivos da erosão. Utilizando-se a técnica de OCT, foi possível comprovar que o *laser* foi eficiente na prevenção e paralisação da progressão da lesão no período de até 15 dias de ciclagem de erosão/abrasão. O grupo *laser* obteve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo FFA, por exemplo em 15 dias de ciclagem a profundidade média mensurada da lesão para o grupo FFA foi de 14,8 μ m enquanto que para o grupo *laser* foi de 6,9 μ m. Assim, pode-se afirmar que o laser de Nd:YAG, se utilizado de acordo com o protocolo deste trabalho, tem a capacidade de prevenir e/ou paralisar as lesões de erosão/abrasão do tecido dentinário.

De acordo com as análises de microscopia eletrônica de varredura, é possível afirmar que a morfologia encontrada nas amostras irradiadas com *laser* é similar ao reportado na literatura³³, o derretimento e fusão indicam que foram atingidas altas temperaturas (acima de 1200°C) e conseqüentemente houveram alterações

químicas e de cristalinidade, como reportado pela literatura, essas mudanças são dependentes de temperatura³³. E também foi observada uma camada de esfregaço na superfície das amostras, que parece fluorescer mais com o decorrer do tempo. Esta camada não foi removida mesmo após a lavagem ultrassônica e provavelmente seja composta por uma mistura da dentina amolecida pelo ácido cítrico do refrigerante utilizado na ciclagem, que percolou e foi dissolvido pela própria atrição da escova, somado aos resíduos do abrasivo do dentífrico utilizado.

Como ainda não há muitos estudos de erosão/abrasão em dentina na literatura, os resultados obtidos nesse trabalho favorecem a realização de trabalhos futuros que possibilitem por exemplo, estudar a otimização do protocolo de irradiação com laser, aumentar o período de ciclagem para que seja analisado o tempo de duração do tratamento e ainda realizar estudos *in vivo* para que o tratamento possa ser utilizado clinicamente, entre outros. E ainda, para o diagnóstico foi possível observar que o OCT pode ser utilizado no diagnóstico precoce de lesões de erosão, no entanto, ainda são necessários outros estudos para que o equipamento OCT seja miniaturizado a ponto de que possa ser utilizado em estudos *in vivo* e posteriormente na clínica odontológica.

6. CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que:

1 – a técnica de tomografia por coerência óptica permite o diagnóstico precoce e o monitoramento da profundidade e da área das lesões de erosão e abrasão da dentina, avaliando a eficácia dos tratamentos preventivos propostos;

2 – o sistema de imagens por fluorescência permite detectar as mudanças de fluorescência ocasionadas na dentina oriunda dos tratamentos propostos e do modelo de ciclagem utilizado;

3 – a irradiação da dentina com laser de Nd:YAG foi a estratégia mais eficiente na redução do desenvolvimento e progressão das lesões de erosão/abrasão, enquanto que a associação com a aplicação tópica de FFA fosfato acidulado não apresenta maiores efeitos.

7. APÊNDICES

APÊNDICE A- Parecer do Comitê de Ética em Uso de Animais UFABC.



Comissão de Ética em Uso de Animais – CEUA
Avenida dos Estados, 5001 – 1º andar – Torre I do Bloco A
CEP: 09210-170 – Santo André, SP
Tel: (11) 4996-7938
E-mail: ceua@ufabc.edu.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **004/2013** nas fls. **15** do livro **01** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Patricia Aparecida da Ana, Coordenadora da linha de pesquisa **Quantificação dos efeitos térmicos e estruturais promovidos pela irradiação com laser Nd:YAG quando empregado pra prevenção da erosão na dentina radicular** da qual participa a pesquisadora: **Daisa de Lima Pereira**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS (CEUA) no dia **24.04.2013**.

Com validade a partir de **Maió/2013** à **Agosto/ 2014**.

Santo André-SP, 30 de abril de 2013.


Prof. Dra. Renata Simões
Coordenadora
CEUA - UFABC

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 MARTHALER, T. M. **Changes in dental caries 1953-2003.** Caries Res. 38: 173-181 p. 2004.
- 2 BARTLETT, D. W. **The role of erosion in tooth wear: aetiology, prevention and management.** International Dental Journal. 55: 277-284 p. 2005.
- 3 NARVAI, P. C.; FRAZÃO, P.; CASTELLANOS, R. A. **Declínio na experiência de cárie em dentes permanentes de escolares brasileiros no final do século XX.** Odontol e Sociedade. 1: 25-29 p. 1999.
- 4 WANG, X.; LUSSI, A. **Assessment and management of dental erosion.** Dent Clin N Am. 54: 565-578 p. 2010.
- 5 SERRA, M. C.; MESSIAS, D. C. F.; TURSSI, C. P. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. **Braz Oral Res**, v. 23, n. Spec Iss 1, p. 49-55, 2009.
- 6 LUSSI, A. **Dental erosion : from diagnosis to therapy.** Karger, 2006. ISBN 3-8055-8097-5.
- 7 KREULEN, C. M. et al. Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. **Caries Res**, v. 44, n. 2, p. 151-9, 2010.
- 8 BARTLETT, D. W. **Etiology an prevention of acid erosion.** Compendium. 30: 616-620 p. 2009.
- 9 DE OLIVEIRA, A. C. S.; DAMASCENA, N. P.; DE SOUZA, C. S. Análise clínica de pacientes portadores de lesões cervicais não cariosas e sua relação com hábitos. **Rev Sul-Bras Odontol.**, v. 7, n. 2, p. 182-92, 2010.
- 10 KREULEN, C. M. et al. **Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents.** Caries Research. 44: 151-159 p. 2010.
- 11 **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003 Brasil e grandes regiões.** Rio de Janeiro. 2004
- 12 **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009 Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil.** Rio de Janeiro. 2011
- 13 ONU. Relatório de Desenvolvimento Humano 2014-PNUD. 2014.
- 14 HARA, A. T. et al. Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. **Caries Res**, v. 39, n. 2, p. 134-8, Mar-Apr 2005.
- 15 SCHLUETER, N. et al. Effect of pepsin on erosive tissue loss and the efficacy of fluoridation measures in dentine in vitro. **Acta Odontol Scand**, v. 65, n. 5, p. 298-305, Oct 2007.
- 16 MAGALHAES, A. C. et al. Effect of NaF and TiF(4) varnish and solution on bovine dentin erosion plus abrasion in vitro. **Acta Odontol Scand**, v. 70, n. 2, p. 160-4, Mar 2012.
- 17 MAGALHAES, A. C. et al. **Programa de Atualização em Odontologia preventiva e saúde coletiva.** 2007.

- 18 MORETTO, M. J. EFEITO DO USO DE DENTIFRÍCIOS COM ALTA E BAIXA CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO SUPLEMENTADO COM TRIMETAFOSFATO SOBRE A EROÇÃO E ABRASÃO DO ESMALTE DENTÁRIO BOVINO. ESTUDO IN VITRO. 2009. UNESP, Araçatuba.
- 19 RIOS, D. et al. The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. **J Am Dent Assoc**, v. 139, n. 12, p. 1652-1656, 2008.
- 20 ATTIN, T. et al. Use of Variable Remineralization Periods to Improve the Abrasion Resistance of Previously eroded Enamel. **Caries Res**, v. 34, p. 48-52, 2000.
- 21 RIOS, D. et al. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. **Caries Res**, v. 40, n. 3, p. 218-23, 2006.
- 22 SERRA, M. C.; MESSIAS, D. C. F.; TURSSI, C. P. **Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale**. Braz Oral Res: 49-55 p. 2009.
- 23 CURY, J. A. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: (Ed.). **Odontologia restauradora - Fundamentos e Possibilidades**. São Paulo: Santos, 2001.
- 24 STEINER-OLIVEIRA, C. et al. **Effect of pulsed CO2 laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion**. Archives of Oral Biology. 55: 127-133 p. 2010.
- 25 ZECELL, D. M. et al. **Compositional and crystallographic changes on enamel when irradiated by Nd:YAG or Er,Cr:YSGG lasers and its resistance to demineralization when associated with fluoride**. Lasers in Dentistry XVI: Proc. of SPIE. 7549: 75490G1-75490G12 p. 2010.
- 26 ANA, P. A. et al. **Effect of Er,Cr:YSGG laser and professional fluoride application on enamel demineralization and on fluoride retention**. Caries Research. 46: 441-451 p. 2012.
- 27 ZECELL, D. M. et al. Nd:YAG laser in caries prevention: a clinical trial. **Lasers Surg Med**, v. 41, n. 1, p. 31-5, Jan 2009.
- 28 MAGALHAES, A. C. et al. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. **Photomed Laser Surg**, v. 26, n. 6, p. 559-63, Dec 2008.
- 29 WIEGAND, A. et al. Effect of Titanium Tetrafluoride and Amine Fluoride Treatment Combined with Carbon Dioxide Laser Irradiation on Enamel and Dentin Erosion. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 2, p. 219-226, 2010.
- 30 STEINER-OLIVEIRA, C. et al. Effect of a pulsed CO2 laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. **Arch Oral Biol**, v. 55, n. 2, p. 127-33, 2010.
- 31 RIOS, D. et al. In Vitro Evaluation of Enamel Erosion After Nd:YAG Laser Irradiation and Fluoride Application. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 5, p. 743-747, 2009.
- 32 NELSON, D. G. W., J.S.; FEATHERSTONE, J.D. Morphology, histology and crystallography of human dental enamel treated with pulsed low-energy infrared laser radiation. **Caries Res**, v. 21, n. 5, p. 411-26, 1987.
- 33 BACHMANN, L.; ZECELL, D. M. **Estrutura e composição de esmalte e dentina**. 2005.

- 34 MORAES, M. C. D. **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)**. 2012. (Master). IPEN, USP
- 35 SOUZA, S. H. J. **Análise da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com laser de Nd:YAG e flúor**. 2014. (Master). USP, São Paulo.
- 36 AMARAL, S. D. M. et al. Lesões não cariosas: o desafio do diagnóstico multidisciplinar. **Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia**, p. 96-102, 2012. ISSN 18094872
18094856.
- 37 COMAR, L. P. et al. Dental erosion: an overview on definition, prevalence, diagnosis and therapy. **Braz Dent Sci**, v. 16, n. 1, p. 6-17, 2013.
- 38 FURTADO, J. R. et al. Aspectos físico-químicos relacionados ao potencial erosivo de bebidas ácidas. **RFO**, v. 15, n. 3, p. 323-328, 2010.
- 39 FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie Dentária- A doença e seu tratamento clínico**. São Paulo: Santos, 2011.
- 40 ATTIN, T. **In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel**. Caries Res. 35: 216-222 p. 2001.
- 41 SOBRAL, M. A. P. et al. **Effect of Nd:YAG Laser and acidulated phosphate fluoride on bovine and human enamel submitted to erosion/abrasion or erosion only: An in vitro preliminary study**. Laser Surg. 27: 709-713 p. 2009.
- 42 SMITH, B. G.; KNIGHT, J. K. An index for measuring the wear of teeth. **BDJ**, v. 156, p. 435-38, 1984.
- 43 MESSIAS, D. C. F.; SERRA, M. C.; TURSSI, C. P. Estratégias para prevenção e controle da erosão dental. **Rev Gaucha Odontol**, v. suplemento 0, p. 7-13, 2011.
- 44 TENUTA, L. M. A. et al. Fluoride Release from CaF₂ and Enamel Demineralization. **J Dent Res**, v. 87, n. 11, p. 1032-1036, 2008.
- 45 ANA, P. A.; BACHMANN, L.; ZECELL, D. M. Lasers effects on enamel for caries prevention. **Laser Physics**, v. 16, n. 5, p. 865-875, 2006. ISSN 1054-660X
1555-6611.
- 46 BOARI, H. G. D. et al. Absorption and thermal study of dental enamel when irradiated with Nd:YAG laser with the aim of caries prevention. **Laser Physics**, v. 19, n. 7, p. 1463-1469, 2009. ISSN 1054-660X
1555-6611.
- 47 AC, D. et al. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ Formations and its anti-cariogenic action on human enamel: an in vitro study. **J Clin Laser Med Surg**, v. 21, n. 4, p. 197-201, 2003.
- 48 SANTOS, M. et al. Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on sound and demineralized enamel. **Lasers in Dentistry VII**, v. SPIE 4249, p. 169-174, 2001.

- 49 STEINER-OLIVEIRA, C. et al. Effect of the CO2 laser combined with fluoridated products on the inhibition of enamel demineralization. **J Contemp Dent Pract**, v. 9, n. 2, p. 113-121, 2008.
- 50 LOPES, A. O.; ARANHA, A. C. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and a desensitizer agent on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. **Photomed Laser Surg**, v. 31, n. 3, p. 132-8, Mar 2013. ISSN 1557-8550 (Electronic) 1549-5418 (Linking).
- 51 SANTOS, A. P. M. et al. Um sintoma preocupante: a hipersensibilidade dentinária. **Rev Bras Odontol**, v. 2, p. 242-6, 2010.
- 52 ANA, P. et al. Preventive effects on enamel by Nd:YAG laser and fluoride application. **Abstracts of 87th General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research**, 2009.
- 53 LEE, C.; DARLING, C. L.; FRIED, D. **Polarization-sensitive optical coherence tomographic imaging of artificial demineralization on exposed surfaces of tooth roots** 2009.
- 54 FREITAS, A. Z. **Caracterização de tecidos biológicos através de tomografia por coerência óptica**. 2007. IPEN USP, SÃO PAULO.
- 55 LIU, X.; S. JONES, R. Evaluating a novel fissure caries model using swept source optical coherence tomography. **Dental Materials Journal**, v. 32, n. 6, p. 906-912, 2013. ISSN 0287-4547 1881-1361.
- 56 MANESH, S. K.; DARLING, C. L.; 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**, v. 90, n. 2, p. 802-12, Aug 2009.
- 57 DE OLIVEIRA MOTA, C. C. et al. Optical coherence tomography as an auxiliary tool for the screening of radiation-related caries. **Photomed Laser Surg**, v. 31, n. 7, p. 301-6, Jul 2013.
- 58 CHEW, H. P. et al. Measuring Initial Enamel Erosion with Quantitative Light-Induced Fluorescence and Optical Coherence Tomography: An in vitro Validation Study. **Caries Res**, v. 48, n. 3, p. 254-262, 2014.
- 59 CHAN, K. H. et al. Methods for Monitoring Erosion Using Optical Coherence Tomography. **Proc Soc Photo Opt Instrum Eng**, v. 8566, p. 856606, 2013.
- 60 CARA, A. C. B. **Avaliação do processo de desenvolvimento de desmineralização em esmalte dental humano utilizando a técnica de tomografia por coerência óptica**. Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares. São Paulo. 2012
- 61 COLSTON, B. W. et al. Imaging of hard and soft-tissue in the oral cavity by optical coherence tomography. **Appl. Opt.**, v. 37, n. 16, p. 3582-5, 1998.
- 62 KO, A. C. et al. Ex vivo detection and characterization of early dental caries by optical coherence tomography and Raman spectroscopy. **J Biomed Opt**, v. 10, n. 3, p. 031118, 2005.

- 63 FREITAS, A. Z. et al. Imaging carious human dental tissue with optical coherence tomography. **Journal of Applied Physics**, v. 99, n. 2, p. 024906, 2006. ISSN 00218979.
- 64 VO-DINH, T. **Biomedical Photonics Handbook**. 2003.
- 65 LINS, E. C. C. C. **Espectroscopia da fluorescência na citricultura**. 2009. , USP, São Carlos.
- 66 LINS, E. C. C. C.; MARCASSA, L. G. Construção e caracterização de um sistema de imagens hiperespectrais. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 25, n. 2, p. 67-74, 2009. ISSN 1984-7742.
- 67 ANA, P. A.; PEREIRA, J. B.; LINS, E. C. C. C. **Uso do sistema de imagens espectrais no diagnóstico de pequenas desmineralizações do esmalte**. 30a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO. Águas de Lindóia. 27: 344 p. 2013.
- 68 NAKATA, K. et al. Relationship between fluorescence loss of QLF and depth of demineralization in an enamel erosion model. **Dental Materials**, v. 28, n. 5, p. 523-539, 2009.
- 69 LUSSI, A.; HIBST, R.; PAULUS, R. DIAGNOdent: An Optical Method for Caries Detection. **Journal of Dental Research**, v. 83, n. suppl 1, p. C80-C83, 2004. ISSN 0022-0345.
- 70 PANAYOTOV, I. et al. In vitro investigation of fluorescence of carious dentin observed with a Soprolife(R) camera. **Clin Oral Investig**, v. 17, n. 3, p. 757-63, 2013.
- 71 FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico**. Rio de Janeiro: 2011. ISBN 978-85-7288-860-8.
- 72 WEGEHAUPT, F. et al. Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? **J Oral Rehabil**, v. 35, n. 5, p. 390-4, 2008.
- 73 NAYLOR, F. V. et al. Micromorphological Analysis of Dentinal Structure after Irradiation with Nd:YAG Laser and Immersion in Acidic Beverages. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 24, n. 6, p. 745-753, 2006.
- 74 QUEIROZ, C. S. **Modelos de estudos in vitro para avaliar o efeito do fluoreto na desmineralização e remineralização do esmalte e dentina**. 2004. Unicamp, Piracicaba.
- 75 CURY, J. A. et al. Available Fluoride in Toothpastes used by Brazilian Children. **Braz Dent J**, v. 21, n. 5, p. 396-400, 2010.
- 76 MORON, B. M. et al. Impact of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on tooth erosion/abrasion in vitro. **Aust Dent J**, v. 58, n. 1, p. 106-11, 2013. ISSN 1834-7819 (Electronic)
0045-0421 (Linking).
- 77 TAKAHASHI, R. et al. Surface characterization of current composites after toothbrush abrasion. **Dental Materials Journal**, v. 32, n. 1, p. 75-82, 2013. ISSN 0287-4547
1881-1361.
- 78 VORONETS, J. et al. Controlled toothbrush abrasion of softened human enamel. **Caries Res**, v. 42, n. 4, p. 286-90, 2008.

- 79 WANG, X.; LUSSI, A. Assessment and management of dental erosion. **Dent Clin North Am**, v. 54, n. 3, p. 565-78, 2010.
- 80 TEN CATE, A. R. **Histologia Oral**. 2008.
- 81 MAGALHAES, A. C. et al. Effect of a single application of TiF(4) and NaF varnishes and solutions on dentin erosion in vitro. **J Dent**, v. 38, n. 2, p. 153-7, 2010.
- 82 MARCAUTEANU, C. et al. Quantitative evaluation of dental abfraction and attrition using a swept-source optical coherence tomography system. **Journal of Biomedical Optics**, v. 19, n. 2, 2014.
- 83 MOTAA, C. C. B. O. et al. In vivo evaluation of enamel dental restoration interface by optical coherence tomography. **Rev. Cub. Física**, v. 27, n. 1, p. 99-101, 2010.