



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**



NICOLLE SAN NICOLAS DUBRULL LIA

**EFEITO *IN VITRO* DO TRATAMENTO LASER DE DIODO/GEL DE  
QUITOSANA NA DENTINA RADICULAR DESMINERALIZADA**

Ribeirão Preto

2019

NICOLLE SAN NICOLAS DUBRULL LIA

**EFEITO *IN VITRO* DO TRATAMENTO LASER DE DIODO/GEL DE  
QUITOSANA NA DENTINA RADICULAR DESMINERALIZADA**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para  
obtenção do Grau de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb

Ribeirão Preto

2019

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

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do Serviço de Biblioteca

San Nicolas Dubrull Lia, Nicolle.

EFEITO *IN VITRO* DO TRATAMENTO LASER DE DIODO/GEL DE QUITOSANA NA  
DENTINA RADICULAR DESMINERALIZADA.

Ribeirão Preto, 2019.

Monografia (Tese de Conclusão de Curso) – Universidade de São Paulo, 2019

Orientadora: Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb

Dentina Desmineralizada, Quitosana, Lasers Semicondutores, Microscopia Confocal.

---

*AGRADECIMENTOS*

---

## AGRADECIMENTOS

O meu maior sentimento nessa vida é GRADITÃO! Por conseguir alcançar os meus objetivos, poder realizar os meus sonhos e principalmente por tentar ser uma pessoa melhor todos os dias!

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb, por todo o ensinamento e carinho, não somente durante a orientação deste trabalho, mas ao longo de toda a minha graduação.

Também agradeço a Dra. Juliana Jendiroba Faraoni, por todo o apoio e aprendizado nesta etapa importante em minha vida, que sempre esteve presente e proporcionou o seu melhor.

Minha eterna gratidão a todos os professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, por todos os conhecimentos transmitidos, por todo o esforço e paciência.

As minhas amigas: Olívia, Luana, Maria, Yvana, e Larissa, sem vocês eu não teria me tornado a pessoa que sou hoje. Vocês me ajudaram e me ensinaram a amadurecer, e me apoiaram em todos os momentos, dos mais felizes aos mais tristes. Muito obrigada pela parceria e amizade.

Agradeço a toda a minha família, mas principalmente, ao meu Pai (Marco Antônio Lia), a minha mãe (Maria dos Milagres), a minha irmã (Mariana), a minha avó (Montserrat) e ao meu noivo (José Guilherme). Por sempre me apoiar, me ajudar, me ensinar e acima de tudo me amar! Sou eternamente grata a Deus por ter vocês em minha! O meu amor por vocês é incondicional!

E meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que fazem parte da minha vida, que colaboraram de alguma maneira para eu me torna a pessoa que sou hoje, grata, feliz e realizada.

MUITO OBRIGADA!!!

Nicolle Dubrull Lia

---

*RESUMO*

---

DUBRULL LIA, NSN. EFEITO *IN VITRO* DO TRATAMENTO LASER DE DIODO/GEL DE QUITOSANA NA DENTINA RADICULAR DESMINERALIZADA. [Monografia] – Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Faculdade de Odontologia, 2019.

### RESUMO

O objetivo deste estudo *in vitro* foi analisar o gel quitosana associado à laserterapia na remineralização da dentina radicular. Foram utilizados 60 espécimes de dentina radicular bovina com dimensões de 4x3x2mm, divididos aleatoriamente em 2 grupos (com/sem aplicação de laser) e 3 subgrupos (controle negativo - sem tratamento, aplicação tópica de flúor e gel experimental de quitosana). Previamente ao tratamento, os espécimes foram impermeabilizados com resina composta, com exceção da superfície externa e foram realizadas imagens da superfície dos espécimes no microscópio confocal a laser (Olympus LEXT OLS4000, Japão). Após os tratamentos, os espécimes foram imersos em saliva artificial durante 6 horas para em seguida serem submetidos a ciclagem de pH em solução desmineralizante/remineralizante por 14 dias. Foram realizadas 2 repetições do tratamento com um intervalo de 7 dias. Após o décimo quarto dia, os espécimes foram mantidos em solução remineralizante por 24 horas totalizando um período experimental de 15 dias. Posteriormente foram realizadas análises da rugosidade de superfície e perfil de desgaste por meio do microscópio confocal a laser. Os dados foram analisados para avaliação do desgaste e rugosidade. A análise morfológica do substrato foi descritiva e comparativa. Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que uma vez instalado o processo cariogênico, os agentes estudados não foram capazes de inibir o processo de desmineralização.

**Palavras-chave:** Dentina Desmineralizada. Quitosana. Lasers Semicondutores. Microscopia Confocal.

---

*SUMÁRIO*

---

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
OBJETIVO.....	11
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27

## INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos demonstraram diminuição nos índices de cárie em indivíduos jovens e maior prevalência de dentes em adultos<sup>1</sup>. Contudo, a cárie continua sendo umas das patologias mais acometidas em nações com condições socioeconômicas desfavoráveis<sup>2</sup>. O acúmulo de biofilme dental, a diminuição do fluxo salivar dentre outros fatores, contribuem para a interação das bactérias com o hospedeiro<sup>3</sup>. A diminuição do pH na cavidade bucal contribui com a instalação de uma microbiota mais acidogênica e acidúrica, conseqüentemente a interação e liberação ácida destas bactérias ao meio bucal levará a um processo de desmineralização da superfície dentária, ocasionando e/ou progredindo a doença cárie<sup>2</sup>.

Desta forma, diversas condutas têm sido utilizadas para prevenir a cárie dentária, diminuindo a desmineralização e aumentando o conteúdo mineral da saliva, como por exemplo, a fluoretação na água, presença de flúor nos dentifrícios, aplicação tópica de flúor, a frequência e qualidade da higiene oral e irradiação por um feixe de laser de baixo nível<sup>13</sup>. Estas continuam sendo as medidas preventivas consagradas na prevenção de lesões cariosas, pois além de inibirem o processo de desmineralização, atuam também no enriquecimento do conteúdo mineral da saliva, contribuindo significativamente no processo de remineralização do esmalte e dentina<sup>1</sup>.

Recentemente, novas técnicas estão sendo desenvolvidas com o intuito de aprimorar o tratamento preventivo da cárie, dentre elas podemos citar a associação de componentes antimicrobianos com a laserterapia. Dentre esses componentes, apresenta-se a quitosana, um biopolímero hidrofílico composto de copolímeros de  $\beta$ -(1-4)-D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina<sup>15</sup>, obtido através de células de crustáceos pela

desacetilação da quitina<sup>12</sup>. A quitosana possui muitas propriedades, como a biocompatibilidade, biodegradação, baixa toxicidade<sup>14</sup> e osteocondutividade<sup>18</sup>. A mesma tem apresentado excelente atividade antimicrobiana contra os principais fatores etiológicos da cárie dentária, notáveis efeitos contra patógenos orais<sup>17</sup>, além de proporcionar menor perda do substrato devido às inúmeras propriedades biológicas que este biopolímero é capaz de promover, como por exemplo, inibir a formação do biofilme por meio da interação com a amelogenina e impedir a sua perda na saliva em pH ácido<sup>4</sup>.

A utilização dos lasers tem sido extensamente associada a odontologia preventiva<sup>5</sup>, por isso, o laser de diodo de 980nm foi introduzido devido a sua semelhança ao Nd:YAG<sup>6</sup>, pois se acreditava que os efeitos da irradiação nos tecidos orais seriam os mesmos. A vantagem do laser de diodo é a sua capacidade de selar os túbulos dentinários expostos, além de ser seguro para o tecido pulpar e os odontoblastos<sup>7</sup>. Estudos anteriores também demonstraram que o laser de diodo com comprimento de onda de 810nm e 980nm possuem efeito bactericida<sup>16</sup>. Contudo, os estudos demonstram que as associações do laser com flúor e/ou outro meio preventivo apresenta melhores resultados, porém como associar e o protocolo de aplicação dos materiais preventivos/laser ainda não está bem definido.

## **OBJETIVO**

O presente trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* os efeitos do laser de diodo, associado ou não a aplicação tópica de gel de quitosana para prevenção de cárie dentinária.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Delineamento experimental*

O presente estudo analisou a prevenção da cárie dentinária com a aplicação tópica de flúor (controle) e gel de quitosana (experimental) associada a aplicação de laser diodo para avaliar a sua eficácia. O estudo foi fatorial 2x3, tendo como fator de estudo a aplicação do *laser diodo* em dois níveis: com e sem o laser, associado aos *tratamentos* em 3 níveis: controle (sem tratamento), aplicação tópica de flúor e gel de quitosana. Foram 2 grupos experimentais, subdivididos em 3 (n=10) com um total de 60 fragmentos de dentina radicular bovina. O estudo foi executado conforme o delineamento em blocos completos casualizados. As variáveis de resposta quantitativas foram: desgaste superficial e rugosidade, avaliados em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ). E a variável qualitativa foi: morfologia do substrato após a aplicação do tratamento e após o processo de desmineralização.

### *Preparo dos Fragmentos Dentais*

Dentes incisivos bovinos foram selecionados e higienizados e aqueles que apresentarem trincas na raiz foram descartados. Sessenta dentes foram armazenados em solução de formol a 10% com pH 7,0 até a sua utilização. As raízes foram separadas da coroa com disco diamantado em máquina de corte (Minitom, Struers A/S, Copenhagen, DK-2610, Denmark). A secção foi realizada na junção amelocementária para obter fragmentos de dentina radicular com dimensões de 4x3x2 mm da região cervical da raiz dos incisivos bovinos. Em seguida, os fragmentos de dentina foram fixados em placa de acrílico para a planificação e remoção do cemento radicular com lixa de óxido de alumínio de granulação #600 e #1200, disco de feltro e suspensão de alumina 0,3 e 0,05

µm (Arotec S/685/ A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil) em politriz Arotec APL-4 (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil). Ao final do polimento, os espécimes foram imersos em água deionizada, sob ação do ultrassom (Ultrasonic Cleaner T-1449-D, Odontobrás Indústria e Comércio, Ribeirão Preto – SP, Brasil) por 5 minutos para lavagem e remoção de resíduos.

### *Impermeabilização dos Espécimes*

Para a impermeabilização dos fragmentos de dentina radicular foi utilizada resina composta (Filtek™ Z350, cor A1, 3M ESPE, USA) sem a aplicação de sistema adesivo (Amaechi & Higham, 2001). Este procedimento foi cuidadosamente realizado acomodando as porções de resina composta sobre as faces do fragmento com o auxílio de uma espátula para resina (Suprafill nº1, Duflex, SSWhite, Inglaterra) em uma matriz confeccionada para padronizar o formato da resina ao redor do fragmento de dentina em todas as amostras. A polimerização foi efetuada por meio do fotopolimerizador Kavo Poly Wireless (Kavo Kerr Group, Joinville, SC, Brasil), com 1100mW/cm<sup>2</sup> por 20 segundos.

A impermeabilização foi realizada com o intuito de proteger todas as faces do fragmento com resina composta, exceto a face externa (3 mm) que ficou sem resina. Esta face foi parcialmente coberta com resina composta para ser utilizada posteriormente como referência de dentina controle (sem irradiação de laser). Após a impermeabilização, os espécimes foram analisados em microscópio confocal a laser (Olympus LEXT OLS4000, Japão), conectado a um computador com um software específico. Foram obtidas imagens da superfície em 216x e 2131x de aumento, sendo padronizado os locais da obtenção da imagem para posterior análise da rugosidade e morfologia.

## *Tratamento*

Após a leitura inicial estes foram armazenados em saliva artificial por 24 horas. Em seguida, os espécimes foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais e em 3 subgrupos (n=10) de acordo com os tratamentos:

**G1:** controle (sem irradiação com laser)

**G2:** utilização do laser diodo - O laser utilizado nas amostras foi o laser de diodo de comprimento de onda de 970nm, com fibra óptica de 300 µm de diâmetro. A fibra do laser foi posicionada perpendicularmente a superfície da dentina, no modo contato. Os espécimes foram irradiados por 10 segundos com uma frequência de 10Hz, e uma densidade de energia de 15J/cm<sup>2</sup>. A potência de saída foi medida com um medidor de potência antes de iniciar o tratamento. A potência adotada neste estudo foi de 1W.

### *Subgrupos:*

**A:** Controle negativo (sem aplicação de nenhum tratamento)

**B:** Flúor fosfato acidulado (1,23% F) – O gel foi aplicado com o auxílio de um pincel (Aplicador Microbrush KG Brush Fino - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), em uma única e fina camada, por 4 minutos, na superfície da dentina. Em seguida o flúor foi removido com auxílio de gaze, sem fricção<sup>8</sup>.

**C:** Gel experimental de quitosana (formulação segredo industrial) - O gel foi aplicado com o auxílio de um *microbrush* durante 3 minutos até formar uma camada fina de gel. Em seguida o excesso de gel foi removido com gaze; mantendo o produto por mais 2 minutos na superfície da dentina; depois foi removido com jatos de água deionizada.

Posteriormente a cada tratamento, os espécimes foram imersos em saliva artificial durante 6 horas, iniciando-se em seguida os ciclos de pH na solução desmineralizante.

Foram realizadas mais 2 repetições do tratamento, com um intervalo de 7 dias entre eles; as ciclagens de pH foram realizadas entre os períodos de tratamento.

### *Ciclagem de pH*

Após 24 horas do fim do tratamento, os espécimes foram imersos em saliva artificial durante 6 horas para em seguida serem submetidos a ciclagem de pH por 14 dias (mantidos por 4h na solução desmineralizante e 20 horas na solução remineralizante, a uma temperatura de 37°C), simulando um alto desafio cariogênico. Os espécimes foram lavados com água deionizada e submetidos novamente ao tratamento, a cada 7 dias, totalizando 3 sessões de tratamento. O desafio cariogênico foi fundamentado no estudo de Queiroz et al. (2004). As soluções empregadas foram preparadas de acordo com as seguintes formulações: solução desmineralizante [2,0 mmolL<sup>-1</sup> Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O, 2,0 mmolL<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,075mmolL<sup>-1</sup> tampão de acetato, 0,02ppmF, pH4,7]; solução remineralizante [1,5 mmolL<sup>-1</sup> Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O, 0,9 mmolL<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0150 mmolL<sup>-1</sup> Kcl, 0,1 molL<sup>-1</sup> Tris, 0,03ppmF, pH7,0] com proporção de volume por área de 6,25ml/mm<sup>2</sup> (50 ml) e 3,12mm<sup>2</sup> (24 ml), respectivamente. A cada 3 dias as soluções DES e RE foram substituídas. O experimento foi realizado a 37°C. Após o décimo quarto dia, os espécimes foram mantidos em solução remineralizante por 24 horas, totalizando um período experimental de 15 dias para posterior análises.

### *Avaliação final*

Após a ciclagem de pH, os espécimes foram levados para análise morfológica da superfície por meio do microscópio confocal a laser (Olympus LEXT OLS4000, Japão)

para se obter imagens da superfície em 216x e 2131x de aumento, nos locais padronizados para posterior análise de desgaste e rugosidade das amostras.

Para a análise da rugosidade superficial foram comparadas as médias inicial e final, para determinar se a ciclagem de pH promoveu alteração na textura superficial. Para comparar o efeito da ciclagem em relação à morfologia superficial, foi realizada a diferença entre a rugosidade final e inicial. Valores negativos significam que a superfície se tornou mais lisa, enquanto que valores positivos indicam que a superfície se tornou mais rugosa.

#### *Análise dos dados*

Os dados obtidos foram tabulados e submetidos a testes prévios para determinar a análise apropriada para avaliação do desgaste e rugosidade superficial. Como os dados foram normais e homogêneo realizou-se para as duas análises a ANOVA a dois critérios e teste de Tukey para diferenciação das médias. Na análise da rugosidade antes e depois internamente de cada grupo utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Para a variável de resposta morfologia do substrato, foi realizada apenas análise qualitativa descritiva e comparativa. Para a análise dos dados obtidos utilizou-se o programa Origin e o nível de significância empregado foi de 5%.

## RESULTADOS

### *Rugosidade Superficial*

Na análise da rugosidade antes e depois observou que a rugosidade final foi estatisticamente diferente em relação inicial, com exceção dos grupos quitosana sem laser e controle com laser (Tabela 1).

Tabela 1. Média e desvio padrão ( $\mu\text{m}$ ) da rugosidade superficial nos diferentes momentos e diferentes grupos.

		INICIAL	FINAL
Sem laser	<b>Controle</b>	0,19 $\pm$ 0,06 a	0,24 $\pm$ 0,06 b
	<b>Flúor</b>	0,18 $\pm$ 0,04 a	0,66 $\pm$ 0,07 b
	<b>Quitosana</b>	0,23 $\pm$ 0,06 a	0,26 $\pm$ 0,05 a
Com laser	<b>Controle</b>	0,18 $\pm$ 0,08 a	0,19 $\pm$ 0,03 a
	<b>Flúor</b>	0,23 $\pm$ 0,14 a	0,68 $\pm$ 0,17 b
	<b>Quitosana</b>	0,17 $\pm$ 0,06 a	0,28 $\pm$ 0,06 b

\*Comparação na linha – mesma letra representa similaridade estatística

Na rugosidade superficial, pode-se observar que o grupo do flúor fosfato acidulado (1,23%), associado ou não ao laser de diodo, apresentou diferença estatística ( $p > 0,05$ ) em relação aos outros grupos (Tabela 2).

Tabela 2. Média e desvio padrão ( $\mu\text{m}$ ) da diferença da rugosidade superficial final com a inicial nos diferentes grupos.

	<b>Sem laser</b>	<b>Com laser</b>
<b>Controle</b>	0,05 $\pm$ 0,10 b	0,01 $\pm$ 0,04 b
<b>Flúor</b>	0,48 $\pm$ 0,16 a	0,45 $\pm$ 0,21 a
<b>Quitosana</b>	0,03 $\pm$ 0,07 b	0,11 $\pm$ 0,07 b

\*Comparação na linha – mesma letra representa similaridade estatística

### *Desgaste superficial*

Pode-se observar que o grupo flúor fosfato acidulado (1,23%), associado ou não ao laser diodo, apresentou o maior perfil de desgaste e diferiu estatisticamente do grupo controle e do gel experimental de quitosana, associado ou não ao laser. Contudo, somente o gel experimental de quitosana associado ao laser não apresentou diferença estatística do grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3. Média e desvio padrão ( $\mu\text{m}$ ) do perfil de desgaste para os diferentes tratamentos.

	<b>Sem laser</b>	<b>Com laser</b>
<b>Controle</b>	1,86 $\pm$ 0,68 aA	1,75 $\pm$ 1,71 aA
<b>Flúor</b>	2,99 $\pm$ 2,37 bB	3,12 $\pm$ 3,33 bB
<b>Quitosana</b>	2,07 $\pm$ 1,99 aAB	2,38 $\pm$ 1,85 aAB

\*Letra minúscula - comparação na linha; Letra maiúscula – comparação na coluna. Mesma letra representa similaridade estatística

### *Análise morfológica*

Na análise em microscopia das imagens obtidas, observa-se que na dentina (figura 1) ocorreu tênue alteração da textura superficial. Sendo mais evidente no grupo do flúor fosfato acidulado (1,23%) associado ou não ao laser diodo. E verifica-se que houve maior desgaste superficial no grupo flúor fosfato acidulado (1,23%) associado ou não ao laser diodo (figura 2). Na figura 3, observa-se a formação de um degrau em todas as imagens entre a área controle com a área tratada/submetida ao desafio cariogênico, sendo mais evidente nos grupos com flúor fosfato acidulado (1,23%).

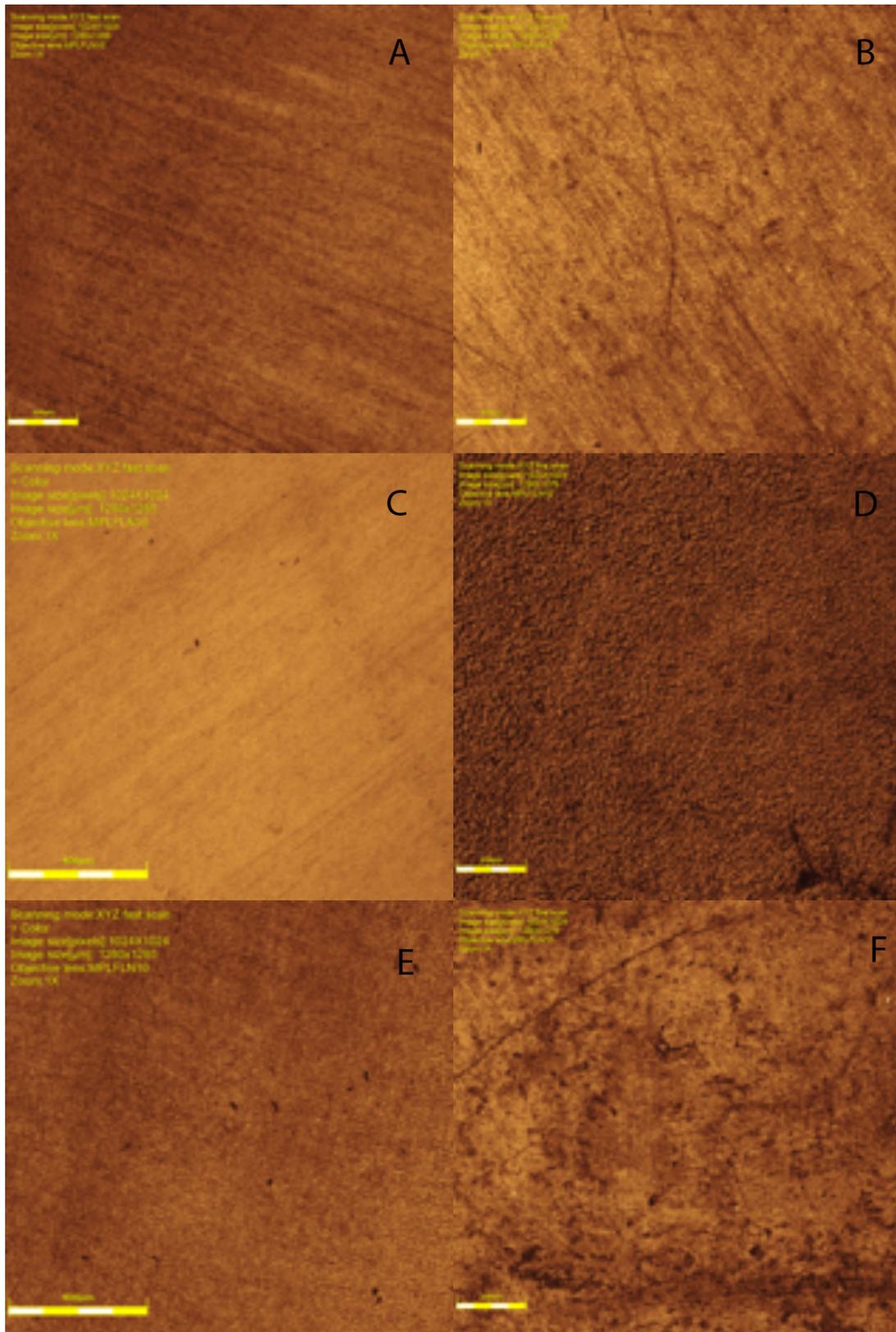


Figura 1. Superfície de dentina antes e após o desafio cariogênico sem aplicação do laser de diodo. A. controle antes; B. Controle após desafio; C. Aplicação tópica de flúor antes; D. Aplicação tópica de flúor depois; E. Solução experimental de quitosana antes; F. Solução experimental de quitosana depois.

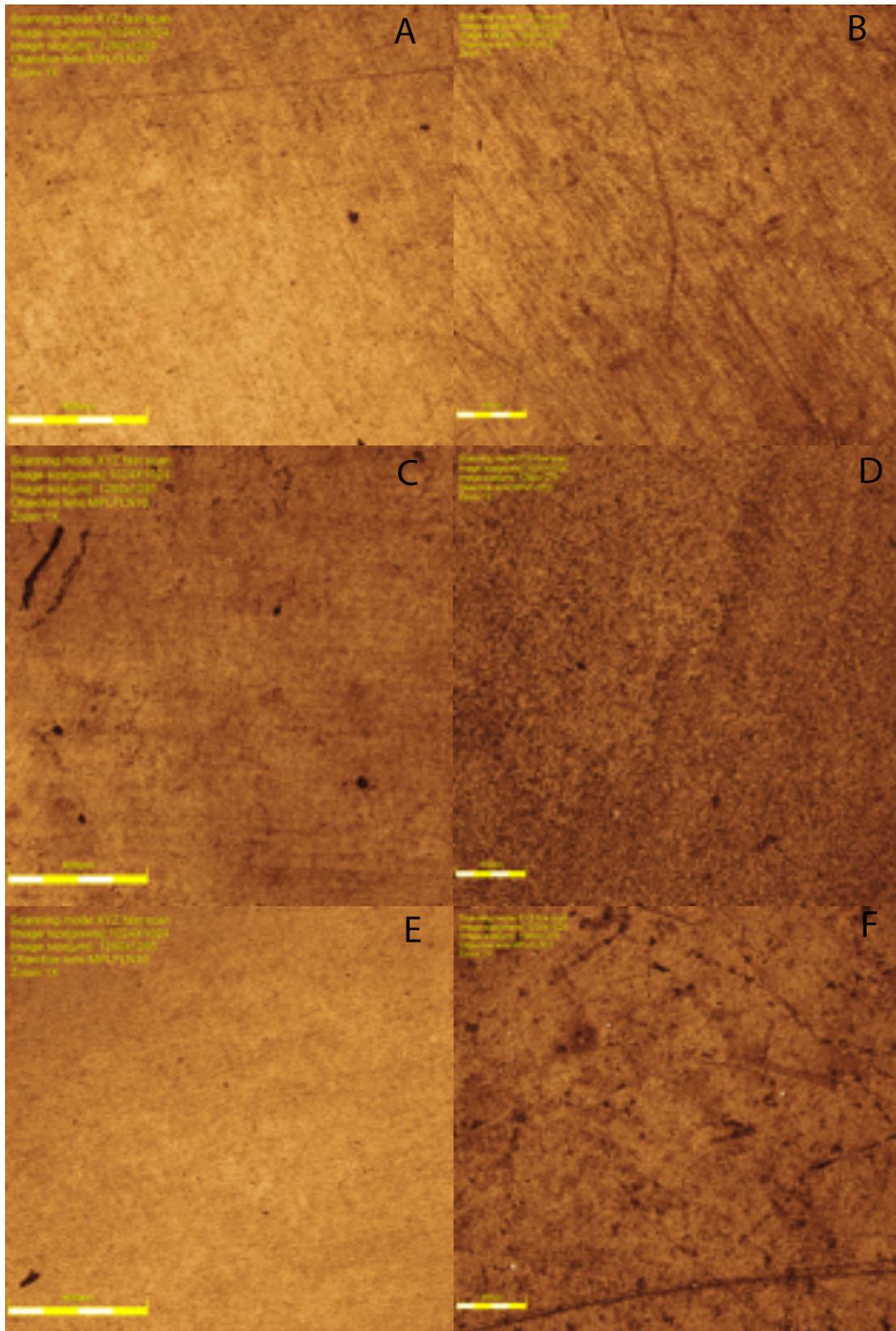


Figura 2. Superfície de dentina antes e após o desafio cariogênico com aplicação do laser de diodo. A. controle antes; B. Controle após desafio; C. Aplicação tópica de flúor antes; D. Aplicação tópica de flúor depois; E. Solução experimental de quitosana antes; F. Solução experimental de quitosana depois.

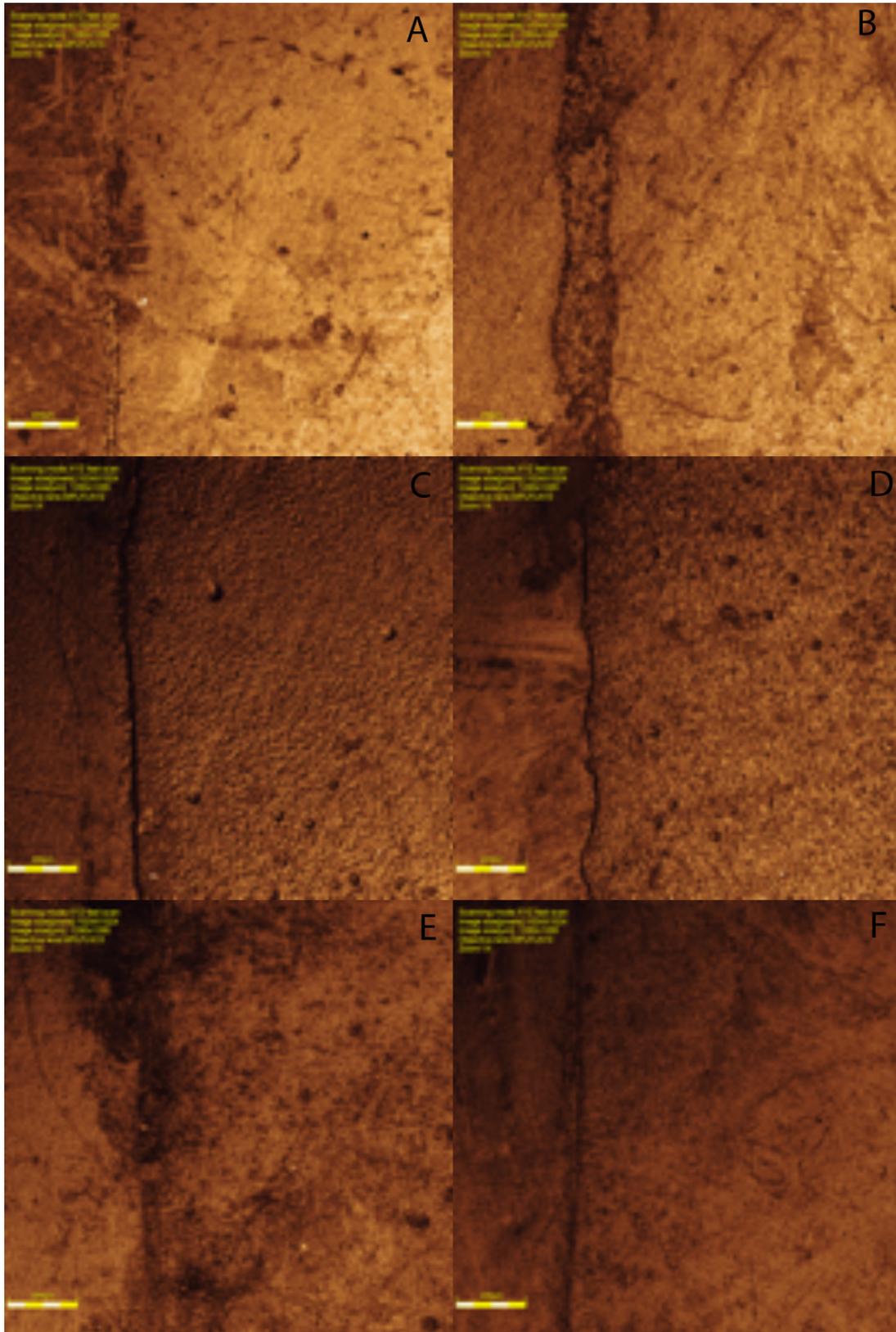


Figura 3. Interface área controle com área submetida ao desafio cariogênico. A. controle; B. Controle com aplicação do laser de diodo; C. Aplicação tópica de flúor; D. Aplicação tópica de flúor com aplicação do laser de diodo; E. Solução experimental de quitosana; F. Solução experimental de quitosana com aplicação do laser de diodo.

## DISCUSSÃO

Neste presente estudo, a estrutura dentinária foi submetida a desafios cariogênicos intensos, que proporcionam uma desmineralização da dentina causando alterações superficiais com perda de estrutura em todos os grupos. Tentou-se simular uma ciclagem na qual o paciente está exposto a alta atividade de cárie com tratamento remineralizante, entre estes o flúor fosfato acidulado, a quitosana e o laser. A eficácia das soluções de quitosana e flúor fosfato acidulado (1,23% F) foi associada ao laser de diodo em um comprimento de 970nm e uma densidade de energia de 15 J/cm<sup>2</sup> para amenizar a desmineralização da dentina. Entende-se, que doses de energia inferiores a 60mJ não promovem ablação tecidual e aumentam a resistência ácida da estrutura dentária, devido às alterações químicas e morfológicas em sua superfície<sup>5</sup>. Evidências demonstram que a irradiação com laser pode modificar a composição química da estrutura dentária e aumentar a sua resistência à desmineralização<sup>32,33</sup>, e além disso pode aumentar a captação de íons fluoreto, cálcio e fosfato<sup>34,35</sup>. A seleção do laser de diodo no atual estudo, foi devido a sua capacidade de aumentar a remineralização<sup>36</sup>, baixo custo, portabilidade, e facilidade de manuseio, pois trata-se de um laser de fibra. O presente estudo demonstrou semelhança nos resultados da desmineralização entre os grupos, associados ou não ao laser, resultados similares foram observados por Soltanimehr, et al<sup>31</sup>. No entanto, outro estudo<sup>37</sup> demonstrou que a aplicação tópica de flúor combinado com a aplicação de laser inibiu o desenvolvimento de lesões de cárie, isso ocorreu provavelmente devido a diferença do comprimento de onda do laser diodo utilizado, que foi de 809µm e o padrão de irradiação utilizado, bem como, na diferença de metodologia empregada.

Neste estudo, o tratamento com laser de diodo com 1W de potência associado ao gel experimental de quitosana proporcionou menor perda do substrato em comparação ao

grupo que utilizou o flúor fosfato acidulado (1,23%), e esse fato ocorreu provavelmente devido as inúmeras propriedades biológicas que o biopolímero proporciona, dentre elas a capacidade de inibir a formação de biofilme, ser antimicrobiano e ter um potencial anti-erosivo, pois ocorre preservação da integridade das fibrilas de colágeno e, conseqüentemente, maior resistência a desmineralização por meio da produção de íons cálcio e fosfato<sup>23</sup>. A natureza hidrofílica da quitosana resulta em importante biocompatibilidade e biodegradabilidade, possui capacidade de induzir a mineralização e proporcionar a formação de dentina e formação de tecido conjuntivo pulpar, e sua característica policatiónica fornece propriedade hemostáticas e antimicrobianas<sup>25</sup>. A interação de quitosana e colágeno foi investigada em relação ao seu papel na remineralização do esmalte<sup>26</sup>, bem como para melhorar as propriedades mecânicas do colágeno da dentina e aumentar a resistência da dentina contra a degradação enzimática<sup>27</sup>. A quitosana é uma molécula com propriedades interessantes que podem ser usadas em uma variedade de aplicações em odontologia, e essas aplicações podem introduzir uma nova perspectiva no campo da erosão dentária<sup>28</sup>. Logo, o resultado apresentado corrobora com a literatura, pois como demonstrado em outros estudos<sup>29,30</sup>, a perda mineral dos espécimes submetidos à aplicação de quitosana foi menor, e a profundidade da lesão mais rasa, portanto a quitosana influenciou no processo de desmineralização da estrutura dentária.

No entanto, o grupo que utilizou flúor fosfato acidulado (1,23%) apresentou o pior resultado na inibição da desmineralização da dentina em comparação ao grupo controle e a quitosana, diferentemente do estudo de Villalba-Moreno, et al.<sup>19</sup>, que apresentou o grupo do flúor com o melhor resultado, pois foi um estudo *in vitro* realizado em esmalte, no qual a incorporação de flúor no esmalte foi facilitada pelo efeito térmico do tratamento a laser e a retenção de flúor nas alterações superficiais produzidas pelo laser. Embora a

literatura demonstre resultados consolidados de que o flúor possui um potencial remineralizante, principalmente em esmalte, os nossos resultados não foram tão significativos e não foram capazes de inibir o processo desmineralizante. Visto que a remineralização da dentina é mais desafiadora que a remineralização do esmalte, devido às porcentagens mais altas de matriz orgânica, que a torna mais porosa e permite que a cárie progrida mais rapidamente do que no esmalte<sup>24</sup>. Portanto, somente a utilização do flúor fosfato acidulado, sem a presença dos componentes contidos na cavidade oral e a sua dinâmica, não possui capacidade de paralisar a desmineralização dentinária. Assim, percebeu-se que o gel experimental de quitosana com e sem o laser de diodo diminuiu o processo de desmineralização da dentina em relação ao grupo do flúor.

Logo, deve-se notar que o uso do laser de diodo não afetou negativamente o processo de inibição da desmineralização dentinária, porém não promoveu o efeito sinérgico no processo de inibir a desmineralização da estrutura dentária. Seus efeitos benéficos como adjunto do gel experimental de quitosana e da fluoretação tópica ainda tem que ser mais aprofundado<sup>1</sup>. Pois, não há uma conformidade sobre modo de aplicação dos lasers, a duração do pulso, a densidade de energia utilizados e os diversos protocolos de desmineralização<sup>20</sup>. E o flúor fosfato acidulado em um processo cariogênico ininterrupto em dentina foi incapaz de inibir o processo de desmineralização, pois não há aderência suficiente na estrutura desmineralizada quanto o gel experimental de quitosana. Dessa maneira, os produtos existentes no mercado atualmente não são capazes de inibir a perda de estrutura dentária quando está sendo submetida a um alto desafio cariogênico. São necessários estudos adicionais para o melhor entendimento e aprofundamento sobre essas substâncias anti-erosivas, como elas funcionam e interagem com a superfície dentinária.

## **CONCLUSÃO**

Baseado nos resultados obtidos, pode-se concluir que uma vez instalado o processo cariogênico, os agentes estudados não foram capazes de inibir o processo de desmineralização. E o emprego do flúor fosfato acidulado (1,23%) não é indicado em casos de não controle da doença cárie.

## REFERÊNCIAS

1. Bahrololoomi Z., Ardakani F.F., Sorouri M. In Vitro Comparison of the Effects of Diode Laser and CO2 Laser on Topical Fluoride Uptake in Primary Teeth. *J Dent (Tehran)*. 2015; 12(8): 585–591.
2. Nunes, SC; Ribeiro, MS; Garcez, AS. PDT Terapia Fotodinâmica na Odontologia. Editora Elsevier, 2013; p. 203.
3. Godoy F.G., Hicks M.J. Maintaining the integrity of the enamel surface: The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *JADA*. 2008;139(5 suppl): 25S-34S.
4. Ruan Q., Zhang Y., Yang X., Nutt S., Oldak J.M. An amelogenin–chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. *Acta Biomater*. 2013;9(7): 7289–7297.
5. Azevedo D.T., Romano J.J.F., Derceli J.R., Palma-Dibb R.G. Effect of N:YAG laser combined with fluoride on the prevention of primary tooth enamel demineralization. *Braz Dent J*. 2012;23(2):104-9.
6. Rizzante F.A.P., Maenosono R.M., Duarte M.A.H., Furuse A.Y., Palma-Dibb R.G., Ishikiriyama SK. In Vitro Evaluation of Dentin Hydraulic Conductance After 980 Nm Diode Laser Irradiation. *J Periodontol*. 2016;87(3):320-6
7. Rosa R.R., Calazans F.K.S., Nogueira R.D., Lancellotti A.C.R.A., Gonçalves L.S., Geraldo-Martins V.R. Effects of different desensitizing treatments on root dentin permeability. *Braz Oral Res*. 2016;30(1):e111
8. Santaella M.R.L.A., Braun A., Matson E., Frentzen M. Effect Of Diode Laser and Fluoride Varnish on Initial Surface Demineralization of Primary Dentition Enamel: an in vitro study. *Int J Paediatr Dent*. 2004;14(3):199-203.

9. Beltrame, A.P.C.A., Suchyta D., Abd Alraheem I., Mohammed A., Schoenfish M., Walter R., Almeida I.C.S., Souza L.C., Miguez P.A. "Effect of Phosphorylated Chitosan on Dentin Erosion: An in vitro Study." *Caries Research* 52.5 (2018): 378-386.
10. Chand B. R., Kulkarni S., Mishra P. "Inhibition of enamel demineralisation using “Nd-YAG and diode laser assisted fluoride therapy”." *P. Eur Arch Paediatr Dent* 17.1 (2016): 59-64.
11. Ahrari F., Mohammadipour H.S., Hajimomenian L., Fallah-Rastegar A. "The effect of diode laser irradiation associated with photoabsorbing agents containing remineralizing materials on microhardness, morphology and chemical structure of early enamel caries." *J Clin Exp Dent* 10.10 (2018): e955.
12. Kesim B., Burak A.K., Ustun Y., Delikan E., Gungor A. "Effect of chitosan on sealer penetration into the dentinal tubules." *Niger J Clin Pract* 10 (2018): 1284.
13. Gawad A.L.A., El-Sharkawy Y., Ayoub H.S., El-Sherif A.F., Hassan M.F. "Classification of dental diseases using hyperspectral imaging and laser induced fluorescence." *Photodiagnosis and photodynamic therapy* 25 (2019): 128-135.
14. Muslim S.N., AL Kadmy I.M.S., Ali A.N.M., Salman B.K., Ahmad M., Khazaal S.S., Hussein N.H., Muslim S.N. "Chitosan extracted from *Aspergillus flavus* shows synergistic effect, eases quorum sensing mediated virulence factors and biofilm against nosocomial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*." *Int J Biol Macromol* 107 (2018): 52-58.
15. Curylofo-Zotti, F.A., Scheffel D.L.S., Macedo A.P., Souza-Gabriel A.E., Hebling J., Corona S. A. M. "Effect of Er: YAG laser irradiation and chitosan biomodification on the stability of resin/demineralized bovine dentin bond." *J Mech Behav Biomed* 91 (2019): 220-228.
16. Abraham, S., Vaswani, S. D., Najan, H. B., Mehta, D. L., Kamble, A. B., & Chaudhari, S. D. "Scanning electron microscopic evaluation of smear layer removal at the apical third

- of root canals using diode laser, endoActivator, and ultrasonics with chitosan: An in vitro study”. *Journal of conservative dentistry: JCD* 22.2 (2019): 149.
17. Kawakita, E. R., Ré, A. C. S., Peixoto, M. P. G., Ferreira, M. P., Ricomini-Filho, A. P., Freitas, O., & Aires, C. P. “Effect of Chitosan Dispersion and Microparticles on Older *Streptococcus mutans* Biofilms”. *Molecules*, 24.9 (2019): 1808.
  18. Suwattanachai, P., Pimkhaokham, A., & Chirachanchai, S. “Multi-functional carboxylic acids for chitosan scaffold”. *International journal of biological macromolecules*, 134 (2019): 156-164.
  19. Villalba-Moreno J, González-Rodríguez A, López-González Jde D, Bolaños-Carmona MV, Pedraza-Muriel V. Increased fluoride uptake in human dental specimens treated with diode laser. *Lasers Med Sci*. 2007. September; 22( 3): 137– 42.
  20. Lizarelli R, Moriyama LT, Bagnato VS. Ablation rate and micromorphological aspects with Nd:YAG picosecond pulsed laser on primary teeth. *Lasers Surg Med* 2002;31:177-185.
  21. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N: Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res* 2011; 45: 581–589.
  22. Ganss C, Lussi A, Sommer N, Klimek J, Schlueter N: Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine. *Caries Res* 2010; 44: 248–252.
  23. Buzalaf MAR, Kato MT, Hannas AR: The role of matrix metalloproteinases in dental erosion. *Adv Dent Res* 2012; 24: 72–76.
  24. Talwar, M., Borzabadi-Farahani, A., Lynch, E., Borsboom, P., & Ruben, J. (2019). Remineralization of Demineralized Enamel and Dentine Using 3 Dentifrices—An InVitro Study. *Dentistry journal*, 7(3), 91.

25. Zein, N., Harmouch, E., Lutz, J. C., Fernandez De Grado, G., Kuchler-Bopp, S., Clauss, F., ... & Fioretti, F. (2019). Polymer-Based Instructive Scaffolds for Endodontic Regeneration. *Materials*, 12(15), 2347.
26. Xu, Z., Neoh, K. G., Lin, C. C., & Kishen, A. (2011). Biomimetic deposition of calcium phosphate minerals on the surface of partially demineralized dentine modified with phosphorylated chitosan. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 98(1), 150-159.
27. Shrestha, A., Friedman, S., & Kishen, A. (2011). Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. *Journal of dental research*, 90(11), 1346-1351
28. Ganss, C., Klimek, J., & Schlueter, N. (2014). Erosion/abrasion-preventing potential of NaF and F/Sn/chitosan toothpastes in dentine and impact of the organic matrix. *Caries research*, 48(2), 163-169.
29. Arnaud, T. M. S., de Barros Neto, B., & Diniz, F. B. (2010). Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: an in vitro evaluation. *Journal of dentistry*, 38(11), 848-852.
30. Ren, Q., Ding, L., Li, Z., Wang, X., Wang, K., Han, S., ... & Zhang, L. (2019). Chitosan hydrogel containing amelogenin-derived peptide: Inhibition of cariogenic bacteria and promotion of remineralization of initial caries lesions. *Archives of oral biology*, 100, 42-48.
31. Soltanimehr, E., Bahrampour, E., & Yousefvand, Z. (2019). Efficacy of diode and CO<sub>2</sub> lasers along with calcium and fluoride-containing compounds for the remineralization of primary teeth. *BMC Oral Health*, 19(1), 121.
32. Memarpour, M., Soltanimehr, E., & Sattarahmady, N. (2015). Efficacy of calcium-and fluoride-containing materials for the remineralization of primary teeth with early enamel lesion. *Microscopy research and technique*, 78(9), 801-806.

33. Ana, P. A., Tabchoury, C. P. M., Cury, J. A., & Zezell, D. M. (2012). Effect of Er, Cr: YSGG laser and professional fluoride application on enamel demineralization and on fluoride retention. *Caries research*, 46(5), 441-451.
34. Bahrololoomi, Z., & Lotfian, M. (2015). Effect of diode laser irradiation combined with topical fluoride on enamel microhardness of primary teeth. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*, 12(2), 85.
35. González-Rodríguez, A., de Dios López-González, J., Del Castillo, J. D. D. L., & Villalba-Moreno, J. (2011). Comparison of effects of diode laser and CO 2 laser on human teeth and their usefulness in topical fluoridation. *Lasers in medical science*, 26(3), 317-324.
36. Powers, J. M., Sakaguchi, R. L., & Craig, R. G. (2012). *Craig's restorative dental materials*/edited by Ronald L. Sakaguchi, John M. Powers. Philadelphia, PA: Elsevier/Mosby,.
37. Santaella, M. R. L. A., Braun, A., Matson, E., & Frentzen, M. (2004). Effect of diode laser and fluoride varnish on initial surface demineralization of primary dentition enamel: an in vitro study. *International journal of paediatric dentistry*, 14(3), 199-203.