



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

DANIELE MARA DA SILVA ÁVILA

**INFLUÊNCIA DE POLÍMEROS BIOADESIVOS SOBRE O
EFEITO PROTETOR DO FLÚOR NO
DESENVOLVIMENTO DA EROSÃO DENTAL**

2014

DANIELE MARA DA SILVA ÁVILA

**INFLUÊNCIA DE POLÍMEROS BIOADESIVOS SOBRE O
EFEITO PROTETOR DO FLÚOR NO DESENVOLVIMENTO
DA EROSÃO DENTAL**

Dissertação apresentada ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade em Dentística.

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges

Co-orientadora: Profa. Dra. Tais Scaramucci

São José dos Campos

2014

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alessandra Buhler Borges (Orientadora)
Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus São José dos Campos

Prof. Dr. Cesar Rogério Pucci
Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus São José dos Campos

Profa. Dra. Ana Carolina Magalhães
Faculdade de Odontologia de Bauru
USP – Universidade de São Paulo
Campus Bauru

São José dos Campos, 12 de dezembro de 2014.

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Simone Vicente da Silva e Sérgio André Pereira Inocêncio de Ávila, pela dedicação e amor, pelo incentivo e esforços incalculáveis para o meu bem maior. Obrigada por muitas vezes abdicarem de seus sonhos para que os meus pudessem ser realizados e por serem meus maiores exemplos de ética e seriedade. Amo vocês!

À minha querida irmã, Damara da Silva Ávila, pela grande amizade e alegria que me fazem sorrir nos momentos mais difíceis. Não há melhor relação de amizade e companheirismo entre duas pessoas do que a nossa.

Ao meu querido irmão, Vitor Hugo da Silva Ávila pelo carinho e seu sorriso lindo que sempre me emociona. Meu filhinho amado, sempre irei te proteger.

Ao meu grande amor e companheiro, Rafael Brazuna Nogueira por ser o meu maior incentivador, pelo seu carinho e por sempre me entender. Sua presença me deixa mais confiante e torna minha caminhada muito mais suave, você faz parte desta minha vitória. Já estava preparado para as nossas vidas ficarmos juntos. Eu te amo pra sempre.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges, por minha formação acadêmica, exemplo de vitória e grandes conquistas. Agradeço incondicionalmente por todo conhecimento transmitidos e pela excelência em seus trabalhos.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Taís Scaramucci, pela relevante ajuda no desenvolvimento do nosso trabalho e por compartilhar seus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres, por ser tão fantástico, dedicado e presente nos momentos mais complexos, sempre com uma ideia excelente para minimiza-los.

Às minhas amadas amigas fantásticas, Ana Júlia Farias de Lacerda e Rayssa Ferreira Zanatta, com toda certeza do mundo, as duas pessoas mais importantes que eu conheci nestes dois anos de Pós-graduação, sem as quais não teria chegado tão longe. Obrigada pelas conversas, ajudas e conselhos, vocês são fantásticas.

Às minhas queridas amigas *Laura Célia Fernandes Meireles Elia* e *Lucélia Lemes Gonçalves*, agradeço pela convivência, carinho e conhecimentos compartilhados.

Ao *Prof. Dr. Ivan Balducci* pela grande ajuda na análise estatística.

À secretária do departamento de Odontologia Restauradora *Rosangela*, às técnicas *Fernanda* e *Josiana* pela prestesa e dedicação ao trabalho e pelos auxílios quando mais precisei.

Aos docentes do departamento de Odontologia Restauradora, que contribuíram com seus conhecimentos.

Aos funcionários da limpeza e manutenção sem os quais não teríamos um ambiente agradável para realizarmos nosso trabalho.

Aos funcionários da secretaria de Pós Graduação pela ajuda, organização e presteza em seus trabalhos.

À *CAPES* pela concessão de bolsa.

À *FACTUN* pela concessão do auxílio para aquisição do equipamento Copo Ford utilizado neste estudo.

*“O mérito não consiste em fazer nem em dar muito,
mas, antes, em receber e amar muito.”*

Santa Teresinha das Rosas

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Erosão Dentária	18
2.1.1 Definição e etiologia	18
2.1.2 Prevenção e controle das lesões	25
2.2 Fluoretos	26
2.3 Agentes Bioadesivos	30
2.4 Métodos Para Quantificação de Lesão Erosiva	34
4 OBJETIVO	38
4.1 Objetivos Específicos	38
5 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1 Delineamento Experimental	39
5.1.1 Unidade Experimental	39
5.1.2 Fatores em estudo:	39
5.1.3 Variáveis Respostas	39
5.1.4 Metodologias	39
5.2 Comitê de Ética	40
5.3 Ensaio Laboratoriais	40
5.3.1 Preparo dos Espécimes	40
5.3.2 Divisão dos grupos	45
5.3.3 Preparo das soluções	45

5.3.4 Padronização da viscosidade das soluções	47
5.3.4 Ciclagem dos espécimes	49
5.3.4.1 Desafio erosivo e tratamento com as soluções	49
5.3.5 Ensaio de Microdureza.....	50
5.3.6 Ensaio de Perfilometria	52
5.3.7 Definição da concentração de Flúor	55
5.4 Planejamento Estatístico	55
6 RESULTADOS.....	58
6.1 Análise de Microdureza.....	58
6.1.1 Remineralização (KHN ₃ em relação ao KHN ₂)	59
6.1.2 Efeito protetor (KHN ₄ em relação ao KHN ₂)	62
6.2 Análise de Perfilometria	64
7 DISCUSSÃO.....	67
8 CONCLUSÃO	77
9 REFERÊNCIAS*	78

Ávila DMS. Influência de polímeros bioadesivos sobre o efeito protetor do flúor no desenvolvimento da erosão dental [dissertação]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2014.

RESUMO

A erosão é um processo multifatorial que envolve a desmineralização dental pela ação química de ácidos extrínsecos ou intrínsecos. Visto que o efeito protetor do flúor contra erosão tem sido relacionado principalmente à formação de depósitos de fluoreto de cálcio e à adsorção de íons flúor na superfície dental, hipotetizou-se que a incorporação de agentes bioadesivos nas soluções fluoretadas poderia aumentar a interação de flúor aos tecidos e, conseqüentemente, potencializar seu efeito protetor. Neste estudo foram testados três polímeros (Carbopol 980, Carboximetil Celulose e Aristoflex AVC), em concentrações pré-determinadas com base na viscosidade da solução a ser utilizada, que simularam um enxaguatório bucal. Amostras de esmalte bovino foram confeccionadas e submetidas a um modelo de desmineralização e remineralização com imersão em ácido cítrico a 0,3%, pH 2,6, tratamentos com as soluções contendo os polímeros associados ou não ao fluoreto de sódio (900 ppm) e imersão em saliva artificial. Foram realizadas medidas de microdureza Knoop (KHN_1) e análise perfilométrica inicial de todos os espécimes. Após o primeiro desafio ácido, foi realizada novamente leitura da microdureza dos espécimes (KHN_2), bem como após a primeira imersão nas soluções de tratamento (KHN_3) e o segundo desafio ácido (KHN_4), caracterizando a avaliação da erosão inicial. A alteração de percentual de remineralização ($\% \text{ rem} = (KHN_3 - KHN_2 / KHN_2) * 100$) e de proteção ($\% \text{ prot} = (KHN_4 - KHN_2 / KHN_2) * 100$) foram determinadas. A ciclagem des-re foi repetida por cinco dias, 6x/dia, com imersão nas soluções de tratamento após a primeira e última imersão diária em ácido. Ao final do experimento, a análise perfilométrica final foi realizada para mensurar a perda de estrutura de

esmalte, comparando-se a altura dos perfis inicial e final. Os dados foram analisados com o teste estatístico ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). Nenhum polímero isolado apresentou propriedades de remineralização, apenas o Carbopol, quando associado ao NaF, apresentou efeito similar ao grupo controle NaF. Para a proteção contra erosão inicial, os polímeros isolados não apresentaram significativa redução na desmineralização de esmalte quando comparados ao grupo controle da água. Quando associado ao NaF, o Carbopol apresentou significativamente maior proteção contra erosão em comparação ao grupo controle NaF. Na análise perfilométrica, o Carbopol, associado ou não com NaF, exibiu os menores valores de desgaste, enquanto que o CMC e o Aristoflex não apresentaram efetiva proteção por si mesmos, e também, não aumentaram o efeito protetor do NaF. Conclui-se que o Carbopol, sozinho ou associado ao NaF, apresentou efeito protetor contra a desmineralização do esmalte após o desafio erosivo.

Palavras-chave: Erosão dentária. Polímeros. Fluoreto de sódio. Esmalte dentário. Viscosidade. Microdureza. Perfilometria. Bioadesivos.

Ávila DMS. Influence of polymers bioadhesive on the protective effect of fluoride over enamel erosion development [dissertation]. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2014.

ABSTRACT

*Dental erosion is a multifactorial process involving tooth demineralization by the chemical action of intrinsic and extrinsic acids. Since the protective effect of fluoride against erosion has been mainly related to fluoride adsorption and calcium fluoride deposits on tooth surface, it was hypothesized that the incorporation of bioadhesive polymers in fluoridated solutions would increase fluoride interaction with the enamel surface, and consequently, enhance its protective effect. In this study, three polymers were tested (Carbopol 980, Carboxymethyl Cellulose and Aristoflex AVC), in pretested concentrations based on the viscosity of the solutions to be used, which simulated a mouthrinse. Bovine enamel specimens were prepared and submitted to a demineralization-remineralization model with immersion in 0.3% citric acid, treatment with polymers solution associated or not to sodium fluoride (900 ppm), and storage in artificial saliva. Initial Knoop hardness (KHN_1) and profilometry of all specimens were measured. After the first acid challenge, microhardness were measured again (KHN_2), as well as after the first immersion in treatment solutions (KHN_3) and after the second acid challenge (KHN_4), characterizing the initial erosion analysis. Percentage of remineralization ($\%rem = (KHN_3 - KHN_2) / KHN_2 * 100$) and of protection ($\%prot = (KHN_4 - KHN_2) / KHN_2 * 100$) was determined. The demineralization-remineralization cycling was repeated for five days, 6x/day, with immersion in treatment solutions after the first and last acid immersion of the day. At the end of the experiment, enamel loss was assessed with profilometry, by comparison of the initial and final profiles. Data were analyzed with ANOVA and Tukey's tests ($p < 0.05$). Regarding rehardening*

properties, no polymer isolated differed from control. When associated to NaF, Carbopol presented similar %rem compared to NaF control. For initial erosion protection, the polymers isolated did not significantly reduce enamel demineralization compared to water control. When associated to NaF, Carbopol presented significantly higher protection against erosion than the NaF control. The profilometry analysis showed that Carbopol, associated or not with NaF, exhibited the lowest enamel loss, while CMC and Aristoflex did not show protective effect by themselves, nor they increased the protective effect of the NaF control solution. The association of Carbopol with NaF exhibited a protective effect against initial enamel demineralization, and Carbopol alone or associated with NaF was able to reduce enamel loss after several erosive challenges.

Keywords: Dental erosion. Polymers. Sodium fluoride. Dental enamel. Viscosity. Microhardness. Profilometry. Bioadhesive.

1 INTRODUÇÃO

Por muitos anos a erosão dentária foi uma condição que despertava pouco interesse de pesquisadores (Lussi et al., 2006c). Atualmente, observa-se que esta patologia tem sido uma das maiores causas de sensibilidade dentinária, estando relacionada, até mesmo, à degradação marginal de restaurações (Lussi et al., 2006c). Além disso, no início do século XXI, começou a ser observado o aumento da longevidade do ser humano, e conseqüentemente, o tempo de permanência da dentição natural na boca também aumentou (Hara et al., 2006c). Isso fez com que os dentes ficassem por mais tempo expostos aos desafios físicos e químicos que incidem na cavidade bucal, os quais contribuem para um desgaste de sua estrutura (Ganss, Lussi, 2006c). Para o correto tratamento desta condição, o cirurgião-dentista deve conhecer e aprender a distinguir os diferentes processos que resultam no desgaste dentário patológico, como erosão, abrasão, atrição e abfração (Addy, Shellis, 2006).

A erosão dentária é uma condição clínica multifatorial, definida como a perda de tecido duro dentário por um processo químico em que não há presença de microorganismos (Lussi et al., 2006c). É geralmente descrita como um fenômeno de superfície, o qual pode resultar no desgaste erosivo em diferentes fases. Inicialmente, a aparência de derretimento da superfície do esmalte ocorre, resultante do amolecimento do tecido, podendo variar de

acordo com o tempo de imersão e com o tipo de ácido envolvido. Se o desafio erosivo persistir, haverá dissolução de camadas consecutivas de cristais de esmalte, levando a uma perda permanente do seu volume, deixando uma camada amolecida na superfície do tecido remanescente (Ganss, 2006a). As características clínicas apresentam-se como uma inicial perda de brilho na superfície do dente, seguido de planificação das estruturas convexas e, com a contínua exposição ao ácido, concavidades se formam em superfícies lisas, e escavações são observadas em superfícies incisais e oclusais (Lussi, Jaeggi, 2006d).

A erosão dentária pode ter causas extrínsecas ou intrínsecas (Bartlett, 2006). As causas intrínsecas compreendem vômitos recorrentes, como em pacientes que sofrem de anorexia, bulimia e refluxo gastroesofágico (Bartlett, 2006). Causas extrínsecas compreendem o consumo freqüente de alimentos e bebidas ácidas, ou a utilização de medicamentos ácidos, tais como a vitamina C efervescente ou aspirina (Larsen, 1990; Ganss, Lussi, 2006b; Huysmans et al., 2011). O aumento do consumo de bebidas carbonatadas e refrigerantes nos últimos anos tem sido fortemente associado ao aumento da prevalência da erosão dentária (Margaritis et al., 2011).

A fisiopatologia da lesão erosiva em esmalte é bastante complexa. Quando a substância ácida atinge a superfície do esmalte, o íon hidroxila do ácido (ou um agente quelante, como o citrato) se liga aos íons de cálcio da hidroxiapatita, e do meio, favorecendo a “dissolução” dos cristais de esmalte, resultando em uma aparência de colméia (Meurman, Frank, 1991; Featherstone, Lussi, 2006). Os componentes não ionizados eventualmente se difundem para o interior

da área de esmalte interprismático, dissolvendo o tecido mineralizado localizado alguns micrometros abaixo da superfície (região de sub-superfície) (Lussi, Hellwig, 2001; Buzalaf et al., 2012), criando uma camada de tecido amolecido em torno de 0,2 a 0,3 μm , conhecida como *softness* (Hara et al., 2006; Lussi et al., 2011). Esse processo é seguido por contínua dissolução mineral, camada por camada e, à medida que vai progredindo no esmalte, a dissolução na camada mais superficial atinge um ponto em que o esmalte se perde por completo (Eisenburger et al., 2000; Addy, Shellis, 2006; Lussi et al., 2011). Ainda, a região de superfície desmineralizada (*softness*) apresenta uma significativa redução da microdureza (Maupome et al., 1998; Lussi et al., 2011), o que a deixa mais susceptível a impactos mecânicos durante a escovação (Addy, Shellis, 2006).

Fatores que auxiliam a prevenção e a reparação de lesões erosivas, como a saliva, podem não ser suficientes contra repetidos desafios erosivos. A taxa de progressão da erosão ainda pode ser significativamente influenciada pelo tipo de substrato dental, pela ocorrência de desafios mecânicos e químicos e, pela exposição à agentes remineralizantes ou protetores (Hara et al., 2006). A frequência e duração da exposição a um agente erosivo também é de primordial importância (Zero, Lussi, 2006).

O uso do fluoreto de sódio (NaF) como um fator protetor contra a erosão dentária tem sido demonstrado há vários anos (Graubart et al., 1972). Esse composto já foi testado na forma de gel, verniz, solução e dentifrício (Lussi et al., 2006c). Um grande desafio relacionado à eficácia dos fluoretos se refere à sua retenção na cavidade bucal, já que os mesmos não apresentam alta

substantividade, particularmente quando adicionado a enxaguatórios ou dentifrícios (Mason et al., 2010). Desta forma, seria oportuna a adição de algum composto à esses veículos de entrega, que fosse capaz de aumentar sua substantividade.

Polímeros bioadesivos são agentes capazes de se ligar a substratos biológicos e têm sido amplamente utilizados na indústria farmacêutica, como estratégia para aumentar o tempo de permanência de medicamentos no organismo (Villanova et al., 2010). O efeito da adição de agentes bioadesivos em produtos de uso oral, relativo ao aumento da substantividade dos ativos presentes na sua formulação, tem sido investigado, com resultados promissores com relação à retenção destes nas superfícies duras dentárias (Zaman et al., 2010). Assim, os sistemas bioadesivos podem ajudar a aumentar o tempo de ação e a manter concentrações terapêuticas do flúor na cavidade oral.

Além disso, esses polímeros bioadesivos, por si só, podem exibir algum efeito protetor contra dissolução ácida. Diversos estudos investigaram a adição de polímeros em bebidas ácidas, na tentativa de se reduzir a dissolução da hidroxiapatita. Estes estudos mostraram que alguns polímeros possuem, de fato, esse efeito inibidor, provavelmente devido à sua interação com a superfície da hidroxiapatita, formando uma camada adsorvida, que seria capaz de reduzir a troca iônica entre a solução ácida e o substrato dental (Barbour et al., 2005; Beyer et al., 2012).

Desta forma, a adição de polímeros bioadesivos à soluções que poderiam ser utilizadas como enxaguatórios bucais, com o objetivo de proteger a estrutura dental contra a desmineralização frente a um desafio erosivo seria interessante. No entanto, o seu

possível efeito protetor, bem como o efeito da associação destes agentes bioadesivos com o fluoreto de sódio ainda precisa ser mais estudado. Perante a este fato, discute-se se os agentes bioadesivos podem influenciar a adsorção e o efeito protetor promovido pela solução de fluoreto de sódio contra a erosão dentária.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A elaboração desta revisão da literatura, sem a pretensão de esgotar o assunto, teve por objetivo abordar algumas das mais relevantes pesquisas que precederam este estudo, as quais serão apresentadas em tópicos principais que versarão sobre definição e etiologia da erosão dental, seus possíveis tratamentos e quanto aos recursos para mensuração de lesões erosivas.

2.1 Erosão Dentária

2.1.1 Definição e etiologia

A erosão dentária é uma condição multifatorial (Zero, 1996; Lussi, 2006a; Lussi et al., 2006c) definida como a perda de tecido dental por um processo químico em que não há presença de microorganismos. Ganss (2006a) descreveu a erosão dentária como sendo um desgaste químico causado por ácidos ou agentes quelantes extrínsecos ou intrínsecos, agindo sobre a superfície dos dentes na ausência de placa. Os aspectos clínicos envolvem a perda de estrutura de superfície, aparência amolecida, escavações em superfícies oclusais

ou incisais e concavidades rasas coronais a partir da junção cimento-esmalte (ten Cate, Imfeld, 1996; Ganss, 2006a). Fatores biológicos, químicos e comportamentais estão intimamente relacionados com a perda de superfície dentária pelo processo erosivo, porém tais fatores podem, por outro lado, oferecer proteção à superfície dentária (Lussi et al., 2006c).

O processo químico de desmineralização da superfície dentária causado pela erosão acontece pela difusão de íons hidrogênio, provenientes de ácidos fracos (como ácido cítrico ou acético) ou fortes (como ácido clorídrico), através da película adquirida (barreira orgânica derivada de proteínas e lipídeos), a qual recobre a superfície dental, e por fim atingindo as camadas de cristais de hidroxiapatita (Featherstone, Lussi, 2006; Lussi, Jaeggi, 2006d), ou pela propriedade quelante da bebida, ligação de ânions com o complexo de cálcio (Featherstone, Lussi, 2006; Lussi, 2006a). Para a erosão dentária, os ácidos fracos são de maior importância, os íons hidrogênio são derivados de ácidos que são dissociados em água, por exemplo, o ácido cítrico, presente em bebidas com potencial erosivo, tem a possibilidade de produzir três íons hidrogênio por cada molécula. O próprio íon hidrogênio pode atacar cristais minerais do dente e dissolve-os combinando-se com outros íons fosfato ou carbonatados (Featherstone, Lussi, 2006).

Featherstone e Lussi (2006) relatam que ácidos fracos, como o ácido cítrico, apresentam uma interação bastante complexa, pois na água eles se apresentam como uma mistura de íons de hidrogênio, ânions ácidos (por exemplo, citrato) e moléculas de ácido não associadas, sendo a quantidade de cada um determinada pela

constante de dissociação do ácido e pelo pH da solução. Além do efeito do íon descrito anteriormente, o ânion citrato pode formar um complexo com o cálcio, sendo este removido do cristal. Portanto, o ácido cítrico apresenta uma ação dupla, sendo muito nocivo para a superfície dental. O processo erosivo será interrompido somente quando substâncias ácidas e/ou quelantes não forem mais fornecidas (Zero, Lussi, 2005).

A maioria das substâncias ingeridas, com pH baixo, como por exemplo, sucos de frutas cítricas e refrigerantes, podem ocasionar erosão dentária. Porém o potencial erosivo de uma bebida não depende apenas de seu pH, mas também relaciona-se com seu conteúdo mineral, com a sua capacidade tampão e com a sua propriedade quelante (Lussi et al., 2004). A quantidade de fluoretos, fosfato e cálcio da substância que será ingerida, determina o grau de saturação desta com os minerais do dente. Bebidas que apresentam baixo potencial erosivo possuem maior grau de saturação em relação ao substrato dental. Ao contrário, bebidas que apresentam propriedades quelantes em relação ao cálcio, podem aumentar o processo erosivo quando em contato com a superfície dental (Featherstone, Lussi, 2006).

Quanto ao efeito tampão da solução, é descrito como a capacidade desta em resistir uma mudança de pH, pois quanto maior a capacidade tampão de uma bebida ou alimento ácidos, maior será o tempo que a saliva levará para neutralizar o ácido aumentando o processo de dissolução da superfície dental (Lussi et al., 2004).

Larsen e Nyvad (1998) compararam o pH, a concentração de fosfato, de cálcio e de fluoreto, bem como o efeito de

tamponamento de 18 bebidas, e relacionaram esses parâmetros com os seus efeitos erosivos e de solubilidade de apatita. O efeito tampão foi determinado por meio de titulação com NaOH. Dentes humanos protegidos com esmalte pra unhas, exceto em uma área de 3 x 4 mm, foram expostas a 1,5 litros de cada bebida por 7 dias ou 24 h sob agitação constante. A profundidade da desmineralização foi avaliada em seções longitudinais por microrradiografia. A dissolução do esmalte aumentou inversamente ao pH da bebida e em paralelo com a solubilidade da apatita do esmalte. O suco de laranja (pH 4,0), suplementado com 40 mmol/L de cálcio e 30 mmol/l de fosfato, apesar de seu baixo pH e sua alta capacidade tampão, não provocou erosão no esmalte, sendo assim, a presença desses minerais influencia no processo erosivo. Geralmente, quanto menor o pH, mais NaOH foi necessário para levar o pH à neutralidade. A bebida à base de cola (pH 2,4) apresentou efeito tampão de 25 mmol/L para pH 7 e até 2 mm de profundidade da erosão. Para todas as bebidas, a baixa concentração de flúor não causou efeito sobre a erosão.

Willershausen e Schulz-Dobrick (2004) em um estudo *in vitro* analisaram o potencial erosivo de diferentes bebidas ácidas ao longo de um intervalo de tempo de 6 h. Cortes de terceiros molares foram incubados nas diferentes bebidas. Os espécimes do grupo controle foram expostos a uma solução de cloreto de sódio a 0,9% sob as mesmas condições (37 °C, em atmosfera umidificada de 5% de CO₂ e 95% de ar). Foi realizada uma análise quantitativa de cálcio, fósforo, oxigênio e outros elementos nos cortes dentais, em várias profundidades variando de 5 a 50 µm, utilizando um micro-analisador de sonda de elétrons (Jeol JXA 8900RL). Observou-se uma perda de

minerais induzida pelas bebidas, especialmente os componentes principais cálcio e fósforo, nas camadas superiores do esmalte para uma profundidade de 30 μm . Na profundidade de 10 μm , a perda de mineral total pode ser determinada: vinho branco (16%), Coca Cola (14,5%), suco de maçã (6,5%) e chá gelado com limão (6,5%). Devido ao efeito tampão das bebidas, não foi possível observar uma correlação direta entre a perda de minerais e o valor pH das bebidas. A conversão da percentagem de peso a partir da análise química de Ca e P para as suas percentagens atômicas mostraram que durante a erosão os componentes principais não foram dissolvidos em significantes diferenças de porcentagens.

Conforme relatado por Hara et al. (2006), fatores biológicos como saliva, película adquirida, anatomia dental e posicionamento em relação aos tecidos moles e língua, estão relacionados ao desenvolvimento da erosão dental. A saliva tem demonstrado ser um dos fatores biológicos mais importantes na prevenção da erosão dental, pois ela desempenha um papel importante na formação da película adquirida, a qual atua efetivamente como um possível permeabilizante seletivo evitando o contato do ácido com a superfície dental e reduzindo o grau de dissolução da hidroxiapatita (Lendenmann et al., 2000). No entanto, o nível de proteção da película parece ser regulado por sua composição, espessura e tempo de maturação (Zero, Lussi, 2005). Por apresentar um certo teor de minerais, a saliva também pode prevenir a desmineralização e também atuar na remineralização. No entanto, estes fatores de prevenção e reparação não são o suficiente contra os desafios altamente erosivos. Sua proteção começa antes do início do ataque ácido, com o aumento

do fluxo salivar em resposta aos estímulos extra bucais, como olfato (Lee, Linden, 1992) e visão (Christensen, Navazesh, 1984). A capacidade de neutralização e tamponamento da saliva aumenta com um maior fluxo salivar (Eisenburger et al., 2000).

Segundo Zero e Lussi (2006) durante e após um desafio erosivo, fatores comportamentais desempenham um papel importante na extensão no desgaste erosivo. A maneira como os alimentos e bebidas são inseridos na cavidade oral (engolindo, bebendo ou usando um canudo) afetará quanto tempo a superfície dental ficará exposta ao desafio erosivo além da frequência e duração da exposição a um agente erosivo. A exposição noturna apresenta um potencial destrutivo devido à ausência do fluxo salivar neste período.

Lussi (2006a) destacou que nas últimas décadas houve uma mudança no estilo de vida da população, destacando-se um aumento no consumo de alimentos e bebidas ácidas. Em crianças e adolescentes foi significativa a redução no consumo de leite e água, sendo inversamente proporcional à frequência e quantidade de ingestão de refrigerantes e sucos artificiais. Monteiro et al. (2000) avaliaram as mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas, no Brasil, entre os anos de 1988 e 1996, e observaram uma redução no consumo de verduras, legumes, frutas e sucos naturais e um aumento de consumo de açúcares e refrigerantes.

Em contra partida, há uma parcela da população que procura por um estilo de vida saudável, através da prática regular de exercícios e pelo consumo de uma dieta rica em frutas e vegetais. Com isso tendem a ingerir, principalmente após a prática esportiva,

bebidas ácidas como isotônicos e sucos, como forma de repor a energia que necessitam, através da manutenção do nível de minerais e fornecimento de carboidratos (Zero, Lussi, 2006).

Além deste novo estilo de vida, essa parcela da população se preocupa em cuidar mais da higiene oral (Zero, Lussi, 2006). Embora seja comprovado que uma boa higiene oral é imprescindível para a prevenção de doença periodontal e de cárie dental, a escovação frequente com produtos abrasivos após consumo de substâncias ácidas pode aumentar o desgaste da superfície dental (Addy, Shellis, 2006). A desmineralização que ocorre logo após o consumo de ácidos é reversível, pela ação dos minerais presentes na saliva. No entanto, o esmalte inicialmente desmineralizado por ação ácida pode ser facilmente removido pela ação mecânica da escovação, o que acelera o processo erosivo (Zero, Lussi, 2006).

Adicionam-se aos fatores comportamentais os estilos de vida pouco saudáveis como os relacionados ao consumo de medicações ou drogas ilegais, os quais aumentam o risco ao desenvolvimento de erosões dentais (Lussi, Hellwig, 2001; Lussi et al., 2006c). Doenças como refluxo gastroesofágico, alcoolismo crônico e distúrbios psicossomáticos (vômitos, como resultado da anorexia ou bulimia) (Zero, 1996; Bartlett, 2006), também estão relacionados à maior predisposição a erosão dental.

2.1.2 Prevenção e controle das lesões

Um pré-requisito das medidas preventivas para erosão dental, é o estabelecimento de um correto diagnóstico e avaliação dos diferentes fatores etiológicos da doença (Lussi, Hellwig, 2006b). As lesões erosivas são apenas diagnosticadas clinicamente, por consequência, se a erosão não for diagnosticada na fase inicial, o tratamento pode ser comprometido, assim como as medidas preventivas.

Como medidas preventivas, importantes ações que podem ser tomadas a fim de diminuir a frequência e severidade da exposição aos ácidos, são estimular o fluxo salivar e a formação da película adquirida, intensificar a resistência dentária aos ácidos e a remineralização, promover proteção química e mecânica, minimizar forças abrasivas e diminuir o potencial erosivo das substâncias ácidas (Gandara et al., 1999; Ganss, Lussi, 2006b). Adicionalmente deve ser feito um aconselhamento dietético por meio da análise do histórico da dieta, possibilitando ao dentista determinar seu potencial erosivo (Lussi, Hellwig, 2006b). Com base nessas análises, um programa preventivo, individualmente adaptado, pode ser sugerido ao paciente (Lussi, Hellwig, 2006b).

Deve-se ressaltar que a eliminação de fatores causais é difícil, pois eles estão associados aos hábitos e aos estilos de vida do paciente (Lussi, Hellwig, 2006b). Frente a essas dificuldades, a progressão das lesões de erosão tende a continuar e com isso causar hipersensibilidade dentária, prejuízos estéticos e presença de fendas na

interface dente/restauração, sendo necessária a reabilitação bucal, nos casos mais avançados (Lussi et al., 2006c). Porém estes tratamentos restauradores não previnem a lesão erosiva, havendo a necessidade de medidas que inibam ou estabilizem a erosão e que não dependam, exclusivamente, de mudanças de hábitos pelos pacientes.

Sendo assim, o aperfeiçoamento de métodos preventivos já utilizados, bem como as técnicas coadjuvantes na prevenção e controle destas lesões erosivas, se faz necessário. Neste contexto, autores relatam o efeito da utilização de agentes fluoretados sobre a superfície erodida (Ganss et al., 2001, 2004, 2011; Schlueter et al., 2007; White et al., 2012; Wiegand et al., 2014), assim como o aumento da substantividade destes agentes por meio da associação com agentes polímeros (Gracia et al., 2010; Zaman et al., 2010; Buzalaf et al., 2014; Wiegand et al., 2014).

2.2 Fluoretos

Conhecendo o sucesso da utilização dos fluoretos no tratamento de lesões de cárie, os mesmos têm sido testados para prevenir ou controlar o desenvolvimento das lesões de erosão na superfície dental (Wiegand, Attin, 2003; Magalhães et al., 2009b). Diversas formas de apresentação dos fluoretos na prevenção ou

controle da erosão têm sido descritos, como dentifrícios, géis, vernizes e soluções, no entanto, sua eficácia é ainda controversa (Wiegand, Attin, 2003). Estudos *in vivo e in situ*, indicam que altas concentrações de fluoretos são capazes de limitar o progresso da erosão e auxiliar no processo de remineralização (Wiegand, Attin, 2003; Moron et al., 2013). Em um estudo *in vitro* Moron et al. (2013) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de flúor em dentifrícios ácidos (pH 4,5) e neutros (pH 7,0) na proteção do esmalte e dentina bovina frente ao desafio erosivo. Foram utilizados dentifrícios líquidos experimentais com as concentrações 550 ppmF, 1100 ppmF e 5000 ppmF e 0ppm F (placebo) e dentifrícios comerciais com 550 ppm F (Colgate bebê, pH7), 1100 ppm F (Crest, pH7) e 5000 ppm F (Duraphat, pH7). O desafio erosivo foi realizado com Sprite Zero (Coca-Cola Company, Porto Real, Rio de Janeiro, Brasil, pH 2,6) durante 90 s, quatro vezes ao dia durante sete dias. Imediatamente após o primeiro e último desafio erosivo, as amostras foram expostas, por 15 s, a um dos dentifrícios. O desgaste da superfície dental foi analisado por meio de análise perfilométrica. Todos os dentifrícios líquidos fluoretados reduziram significativamente o desgaste do esmalte em relação aos dentifrícios comercial e placebo, já para as amostras de dentina, apenas os dentifrícios experimentais com 1100 ppm F e 5000 ppm F reduziram significativamente o desgaste erosivo em comparação aos outros grupos. Neste estudo o pH não teve nenhum efeito, mas a consistência teve um impacto significativo sobre o efeito dos dentifrícios.

A utilização de dentifrícios fluoretados é a forma mais frequente de uso tópico dos fluoretos. Em um estudo *in situ/ex vivo*

Magalhaes et al. (2007) observaram que a presença de fluoreto nos dentifrícios reduz a perda do esmalte submetido à erosão e à abrasão. No entanto, o aumento da eficácia relacionado ao aumento de sua concentração ainda é motivo de controvérsia (White et al., 2012). Rios et al. (2008) ao avaliarem em *in situ/ex vivo* o efeito da aplicação de um dentifício fluoretado altamente concentrado com 5000 ppm F, no esmalte submetido à erosão ou a erosão associada à abrasão por meio de escovação, concluíram que a alta concentração não influenciou, significativamente, no efeito protetor contra erosão ou erosão associada à abrasão. Porém os autores ressaltam que devido a diluição do dentifício e o curto tempo de utilização, não permitiria o depósito de uma camada relevante de fluoreto de cálcio. Resultado semelhante foi observado *in vitro* por Scaramucci et al. (2013), que concluíram que embora o fluoreto de sódio seja capaz de reduzir o desgaste erosivo/abrasivo do esmalte dental, a simulação do dentifício contendo 5000 ppm de flúor não promoveu maior proteção comparado à concentração convencional de 1100 ppm. Deve-se ressaltar que, apesar do uso de dentifrícios fluoretado diminuir o desgaste erosivo, a escovação deve ser evitada imediatamente após o ataque ácido para os pacientes com alto risco em desenvolver erosão dental, devido ao aumento do potencial abrasivo da camada superficial de esmalte desmineralizado (Wiegand, Attin, 2003).

Segundo ten Cate e Featherstone (1991), quando o flúor é introduzido em uma solução contendo cálcio e fosfato, pode-se formar fluoreto de cálcio (CaF_2) ou hidroxiapatita fluoretada (HAF), dependendo do pH e da concentração de cada íons em altas concentrações de flúor, CaF_2 e HAP são estáveis, mas a formação de

CaF_2 é fornecida cineticamente. Este é dissolvido em soluções aquosas e o fosfato inibe a indução dessa dissolução, quando o pH é superior a 5. Esta precipitação é responsável pela formação de uma camada que se comporta como uma barreira física, impedindo o contato da solução ácida com a superfície do esmalte subjacente e ainda age como uma fonte de íons fluoreto durante o desafio erosivo, minimizando a desmineralização, mas esta defesa ocorre até a dissolução total do fluoreto de cálcio (Ganss et al., 2008).

A presença e quantidade de fluoreto de cálcio formado na superfície dental pode depender da diminuição do pH do agente fluoretado, disponibilidade de cálcio no meio, concentração de fluoreto e tempo de aplicação (Saxegaard, Rølla, 1988; Petzold, 2001)

Diferentes compostos fluoretados têm sido testados nos estudos sobre erosão dentária, como fluoreto de sódio (NaF), fluoreto fosfato acidulado (APF), fluoreto de estanho (SnF_2) e fluoreto de amina (AmF) e tetrafluoreto de titânio (TiF_4) (Reed, Bibby, 1976; Wei et al., 1976; Tveit et al., 1988; Büyükyilmaz et al., 1997; Tezel et al., 2002; Van Rijkom et al., 2003; Hove et al., 2006, 2007; Schlueter et al., 2007; Magalhaes et al., 2008, 2009a; Wiegand et al., 2008). No que diz respeito a soluções de TiF_4 , vários estudos, in vitro mostraram um efeito inibitório sobre o desenvolvimento da erosão dental, este efeito não se atribui apenas ao fluoreto, mas também para a ação do titânio. Portanto, especulações sobre o titânio são de que seus íons podem desempenhar um importante papel, já que podem substituir o cálcio na apatita e mostram uma forte tendência em formar um complexo com os grupos de fosfato, formando uma camada estável de dióxido de titânio (Ribeiro et al., 2006). Além deste complexo, sugere-

se que o titânio interage com a superfície de esmalte a ponto de aumentar a incorporação de flúor pelo esmalte (Ribeiro et al., 2006).

Com base nos resultados de ensaios *in vitro* e estudos *in situ* é válido realizar ensaios com diferentes soluções de flúor no que diz respeito a sua combinação com outros agentes, como por exemplo polímeros, a fim de melhorar seu efeito benéfico às lesões de erosão, assim como a utilização de uma concentração definida sobre a quantidade de flúor e viscosidade padrão da solução fluoretada.

2.3 Agentes Bioadesivos

As propriedades bioadesivas dos agentes como forma de administração oral são um importante fator que contribui para determinar, *in vivo*, a substantividade da formulação (Zaman et al., 2010). As tentativas para aumentar tempo de ação e manter as concentrações terapêuticas do flúor, têm se concentrado nos agentes bioadesivos como sistemas de entrega. Frente a isto, a possibilidade da formação de uma camada protetora na superfície dental submetida a um desafio erosivo tem sido estudada, pois esta camada impediria a interação de íons hidrogênio com a superfície dental, reduzindo portanto, a desmineralização. Segundo Zaman et al. (2008) as propriedades bioadesivas de veículos de entrega orais são um importante fator que contribui para determinar a substantividade *in vivo* da formulação empregada. Porém, não é um método

universalmente aceito para determinar a bioadesividade, no entanto a maioria dos estudos relatam o trabalho de adesão e forças máximas para descolamento como parâmetros de bioaderência preferenciais.

Barbour et al. (2005) testaram alguns agentes alimentares comuns e aditivos para o seu efeito sobre a dissolução da hidroxiapatita, quando adicionados à uma solução representativa de ácido cítrico 0,3%, pH 3,2. Dentre os polímeros utilizados, o pirofosfato, tripolifosfato, polifosfato, a goma xantana e a carboximetil celulose reduziram a taxa de dissolução da hidroxiapatita. Os autores atribuem este efeito protetor à ligação desses agentes por adsorção na superfície de hidroxiapatita criando uma camada protetora. Uma solução contendo polifosfato e goma xantana reduziu a dissolução de hidroxiapatita, em altas taxas. Esta camada formada reduziu a troca de íon hidrogênio e íons de cálcio provenientes da erosão dental. Os autores sugerem que estudos sobre a adsorção em pH 3,2 são necessários para avaliar como o pH afetará o efeito da Goma Xantana sobre a hidroxiapatita. Foi demonstrado também que este polímero, a partir de uma solução 3,5%, se adere à mucosa oral in vivo e pode ficar retida na mucosa por 2 h (Needleman et al., 1997).

Ainda sobre possíveis prevenções para o desenvolvimento da erosão dental, a adição de polímeros em bebidas ácidas tem sido investigada como uma tentativa de se reduzir a dissolução da hidroxiapatita. Diversos agentes como goma xantana, goma arábica, pectina, polifosfatos e carboximetil celulose têm mostrado efeito inibidor sobre o potencial erosivo de soluções ácidas na estrutura dental, provavelmente devido à sua interação com a

superfície da hidroxiapatita, formando uma camada protetora, que seria capaz de reduzir a troca iônica entre a solução ácida e o substrato dental (Barbour et al., 2005; Beyer et al., 2012).

Com o objetivo de avaliar o potencial erosivo em esmalte e dentina do suco de laranja modificado por aditivos alimentares Scaramucci et al. (2011) testaram o lactato de cálcio penta hidratado, goma xantana, polifosfato de sódio, pirofosfato de sódio tetrabásico, tripolifosfato de sódio e suas combinações adicionados ao suco de laranja. Por meio de testes como microdureza e perfilometria concluíram que o lactato de cálcio e polifosfato de sódio apresentaram redução da erosão no esmalte e este efeito foi reforçado pela sua combinação. Para a dentina, somente a combinação do lactato de cálcio com o polifosfato de sódio foram responsáveis por reduzir a erosão.

Churchley et al. (2008) testaram *in vitro* o uso de soluções, as quais se referem como fluorpolímeros. Estas foram depositadas como finas películas sobre discos de hidroxiapatita de cálcio e em amostras de dentes humanos. Concluíram que o potencial de um soluções compostas por flúor e polímero inibiu a desmineralização em meio ácido, além de reduzir consideravelmente a permeabilidade dentinária.

Em um estudo *in vitro* Gracia et al. (2010) propuseram determinar o efeito pré-tratamento do esmalte humano com uma combinação de polímero hidrossolúvel contendo, carboximetil celulose, goma xantana e copovidona, sozinho ou associados ao flúor, e a erosão foi feita por ácido cítrico 1%, pH 3,8. Concluíram que a mistura de polímeros e fluoreto reduziu a rugosidade de superfície,

contudo a perda de tecido não foi estatisticamente diferente, comparado a qualquer tratamento sozinho.

O tempo de ação de agentes antimicrobianos para cavidade oral está comprometido por uma série de fatores que o reduzem drasticamente, as mais notáveis são as forças de cisalhamento associadas com a fala, a deglutição e mastigação, bem como a diluição e limpeza efetuada pela contínua produção de saliva (Rathbone et al., 1994). As tentativas para aumentar este tempo de ação e, conseqüentemente a proteção à estrutura dental mantendo suas concentrações terapêuticas, se ligam a utilização de polímeros bioadesivos como veículos de entrega.

Em um estudo *in vitro* Zaman et al. (2008) utilizaram formulações compostas por glicerol, com quantidades variáveis de polietileno glicol 400 e Carbopol 974P, e para análise foram feitos testes de adesão e força máxima para deslocamento. Como resultados a adesão e força máximas para deslocamento aumentaram com o tempo de compressão e concentração de Carbopol. Tais resultados sugerem que a bioadesão e, conseqüentemente, o potencial da biodisponibilidade, poderia ser aumentado através de um veículo de entrega como o glicerol associado ao bioadesivo Carbopol.

Posteriormente, Zaman et al. (2010) ressaltam que para a efetividade dos veículos de entrega para os tecidos duros, é fundamental que o produto desempenhe pertinente controle do biofilme dental, impedir desenvolvimento de lesões de cárie, de erosão e controle de sensibilidade. Neste estudo os autores utilizaram o polietileno glicol 400, glicerol, Carbopol 974P e triclosan para novamente investigar *in vitro* a bioadesividade e o comportamento

destes veículos de entrega. Neste caso a substantividade da formulação em condições de fluxo dinâmico foi estudada por monitorização da liberação de triclosan incorporado, o lançamento dos dados foram ajustados a um modelo de primeira ordem para gerar uma meia vida. Os testes mostraram uma relação positiva entre bioadesão e concentração de Carbopol e que tais formulações podem proporcionar adequada promoção de sua retenção nas superfícies duras no interior da cavidade oral.

Sendo assim, alguns estudos comprovam que a adição de polímeros nas soluções podem proporcionar um aumento da substantividade destas na cavidade oral, porém abrem espaço para estudos futuros no que diz respeito a associação de polímeros com soluções fluoretadas como responsáveis pela incorporação de fluoreto pela superfície dental erodida.

2.4 Métodos Para Quantificação de Lesão Erosiva

Attin (2006) expõe várias técnicas utilizadas para mensurar a perda de estrutura dental e dureza de superfície, principalmente em esmalte submetido a desafios erosivos. As mais frequentemente utilizadas são, perfilometria, microrradiografia, escâner por microscopia eletrônica, microscopia por força atômica, testes de microdureza e teste de permeabilidade a iodo. Ressaltam, ainda, que métodos para análise química dos minerais dissolvidos de tecido dental também são úteis. Os autores concluíram que a natureza

complexa da perda de mineral pelos desafios erosivos não pode ser compreendida por uma única técnica, e sim da aplicação de diferentes abordagens para a compreensão completa.

Com os valores resultantes dos testes de microdureza é possível medir os estágios iniciais da erosão do esmalte e dentina, estágios os quais ainda não há perda de tecido dental e estão associados com o enfraquecimento da superfície. Como relatado anteriormente, uma técnica, apenas, não seria suficiente para compreender a perda de minerais pelos desafios erosivos, assim, como complemento à estes estudos, a análise perfilométrica é feita para avaliar a progressão da desmineralização nos casos de perda tecidual irreversível, desde que esta perda exceda 0,4 μm , assim como a rugosidade desta superfície (Attin, 2006).

Ganss et al. (2005) compararam a microrradiografia longitudinal, a perfilometria e a análise quantitativa de cálcio e fosfato, como métodos quantitativos para mensurar o mineral perdido durante um processo erosivo. Para este estudo, foram preparados espécimes de esmalte dentário humano. Uma área não isolada foi deixada em cada espécime para expor à solução ácida, sendo o restante da estrutura dentária protegido com esmalte para unha. As amostras foram inicialmente mensuradas por microrradiografia e a solução erosiva foi o ácido cítrico (0,05 M; pH 2,3; 10 ml para cada espécie). Nos espécimes onde a erosão foi baixa, a mensuração foi feita utilizando os quatro métodos e houve boa correlação linear, entretanto os valores encontrados nas técnicas de microrradiografia e perfilometria foram 20% menores que na análise de cálcio e fosfato. Com 30 min de exposição à solução ácida, a microrradiografia não

demonstrou correlação com os outros três métodos e os autores concluíram que a microrradiografia deve ser utilizada com critério quando a perda dentária pela erosão for maior que 20 μm .

Cheng et al. (2009) propuseram medir o processo de erosão em esmalte com alta precisão, antes e após a exposição das amostras em ácido cítrico com pH 3,8, por sete tempos distintos. Para análise utilizaram scanner por microscopia eletrônica, microscopia por força atômica e nanoindentação. Para os autores, neste trabalho, uma estrutura de múltiplas camadas que caracteriza o estágio inicial de erosão do esmalte foi estabelecida com base nos testes citados acima. Ressaltam que este modelo pode ser usado para medir diretamente a perda de esmalte e as transições das camadas qualitativamente e quantitativamente, e são essenciais para obter medidas precisas sobre o amolecimento e perda de superfície em função do tempo, acidez, temperatura e uma série de outros parâmetros, o que no futuro poderão conduzir a modelos que descrevem os processos de dissolução do esmalte dental.

Para a realização dos testes de quantificação da erosão, alguns cuidados devem ser observados, como a qualidade do polimento realizado nas amostras para a leitura de microdureza (Attin, 2006), o correto armazenamento das amostras, conhecimento das técnicas pelo operador, para assim executa-las com êxito, e a correta avaliação de resultados obtidos. Em um estudo *in vitro* Attin et al. (2009) avaliaram o quanto o ressecamento da dentina e do esmalte influenciam a análise perfilométrica. Para isto, utilizaram amostras cilíndricas de esmalte e dentina as quais foram armazenadas em água destilada por uma semana, em seguida foram imersas em HCl, pH 2,6

por 2 min. A análise perfilométrica foi feita em três condições: na primeira, os blocos ficavam armazenados em água; na segunda, os blocos ficavam em temperatura de 21 °C em ambiente com umidade a 35%; na terceira os espécimes ficaram totalmente secos e em seguida molhados. Os autores fizeram as análises perfilométricas em vários intervalos de tempo que variaram de 181 min (condição 1 e 2) e 72 h (condição 3) e concluíram que apenas os espécimes de dentina foram afetados com a condição da umidade tendo a leitura facilitada. Portanto, foi sugerida que a mensuração de dentina pela perfilometria seja feita em condições de umidade.

4 OBJETIVO

A proposta do presente estudo foi avaliar a influência de diferentes polímeros bioadesivos no efeito remineralizante e protetor de uma solução fluoretada sobre o desenvolvimento da erosão dental.

4.1 Objetivos Específicos

- a) avaliar se o tipo de polímero apresenta efeito remineralizante e se influencia o desenvolvimento da erosão inicial do esmalte, bem como a perda de esmalte após a ciclagem erosiva;
- b) avaliar se a associação de polímeros com uma solução de fluoreto aumenta seu efeito remineralizante, bem como o seu efeito protetor contra a erosão inicial do esmalte e a perda de esmalte após a ciclagem erosiva.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Delineamento Experimental

5.1.1 Unidade Experimental: 104 amostras de esmalte bovino

5.1.2 Fatores em estudo:

- Tratamentos – 4 níveis:
 - Aristoflex AVC;
 - Carboximetil celulose (CMC);
 - Carbopol 980;
 - Água deionizada (controle negativo).
- Associação com Fluoreto de Sódio (NaF) – 2 níveis:
 - Presença de Fluoreto de Sódio;
 - Ausência de Fluoreto de Sódio.

5.1.3 Variáveis Respostas: microdureza da superfície do esmalte; análise perfilométrica da superfície do esmalte

5.1.4 Metodologias: ensaio de microdureza e ensaio de perfilometria

5.2 Comitê de Ética

A presente pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, por envolver o uso de dentes bovinos extraídos de animais abatidos em frigorífico (Ofício 12/2013-CEUA/UNESP-CSJC-ICT) (ANEXO A).

5.3 Ensaio Laboratoriais

5.3.1 Preparo dos Espécimes

Foram utilizados dentes incisivos bovinos (Figura 1A), recém-extraídos, obtidos de animais jovens, com idade média de três anos. Os dentes foram limpos com curetas periodontais (Hu-Friedy, Chicago, USA) para remoção completa dos tecidos moles aderidos à superfície, e, após limpeza, armazenados em solução de timol a 0,1%, com pH 7,0, durante todo o período de preparo dos espécimes.

Os dentes receberam cortes transversalmente ao seu longo eixo, abaixo da junção amelo-cementária, para remoção da parte radicular, com disco diamantado de dupla face (Figura 1B e 1C) (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil). A polpa dental coronária foi removida com auxílio de limas endodônticas (Maillefer, Dentsply, Petrópolis,

RJ, Brasil) e irrigada com água deionizada para remoção de detritos. Em seguida as coroas foram fixadas na base de um equipamento de corte circular de amostras com a face vestibular voltada para cima, e com auxílio de uma ponta tipo trefina diamantada (Figura 1D), foram confeccionados espécimes circulares com 3 mm de diâmetro (Borges et al., 2012) (Figura 1E).

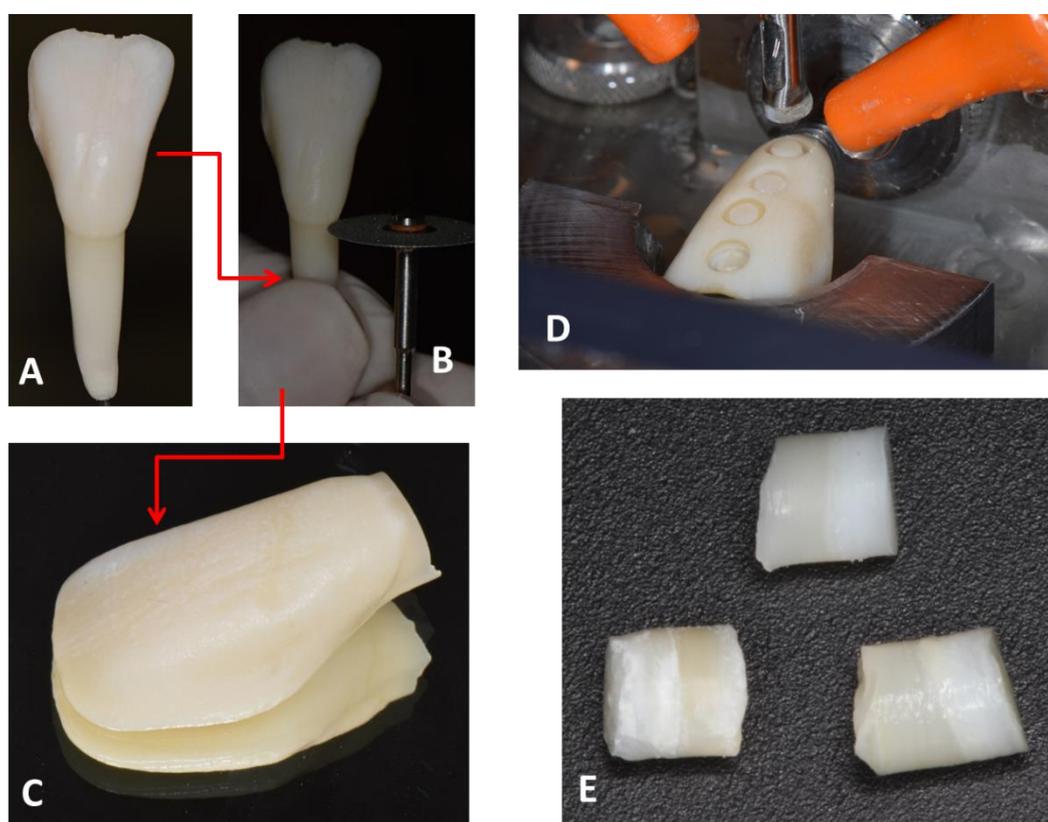


Figura 1 – A) Dente incisivo bovino; B) Remoção da parte radicular com disco diamantado; C) Coroa incisivo bovino; D) Coroa posicionada em Cortadeira circular perpendicular a broca trefina; E) Amostras de 3 mm de esmalte e dentina.

A espessura das amostras foi padronizada com auxílio de um dispositivo metálico circular, de diâmetro ligeiramente maior que 3 mm e de altura definida em 2,1 mm, com auxílio de parquímetro digital (Figura 2A) (Starret, Itu, SP, Brasil), ajustável por meio de um

parafuso. Assim, as amostras foram posicionadas no interior do dispositivo, com o lado de esmalte voltado para baixo, e a dentina remanescente desgastada com lixas de carbetto de silício de granulação 1200 (FEPA-P; Struers, Ballerup, Denmark), acoplada a politriz circular, Politriz Lixadeira Motorizada Polipan-U, (Panambra Zwick, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) em uma velocidade de operação a 300 rpm (Figura 2B) (Torres et al., 2012) de forma que apenas a dentina foi desgastada e a face do esmalte preservada (Figura 2C).

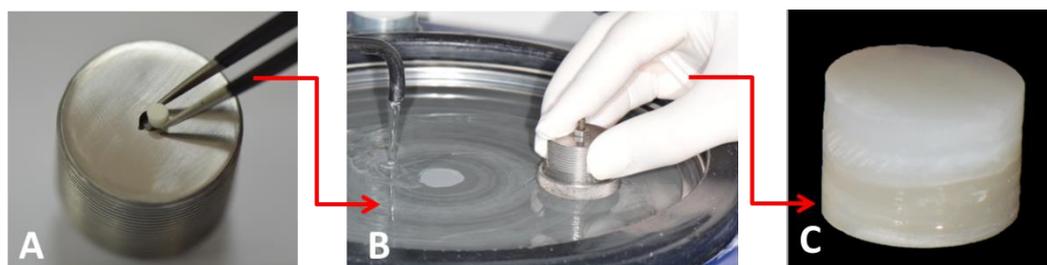


Figura 2 – A) Amostra inserida em dispositivo metálico; B) Padronização em politriz; C) Amostras com a superfície da dentina planificada.

Os espécimes foram embutidos em resina acrílica (ExtectFast Cure Acrylic, ExtectCorp, Enfield, CT, USA) com auxílio de uma matriz de silicone (Figura 3A e 3B) de 6 mm de diâmetro e 3,1 mm de espessura, sendo que no interior desta existia uma outra cavidade em segundo nível, com 3 mm de diâmetro e 0,1 mm de profundidade, onde os cortes circulares padronizados foram posicionados com a face de esmalte voltada para o interior da matriz (Torres et al., 2012). A face lateral da matriz apresentava uma projeção em formato de curva, com objetivo de produzir na amostra uma depressão que auxiliou seu correto posicionamento no

equipamento perfilômetro. Os espécimes foram inseridos em polimerizadora (Figura 3C e 3D) para minimizar a formação de bolhas na resina acrílica.

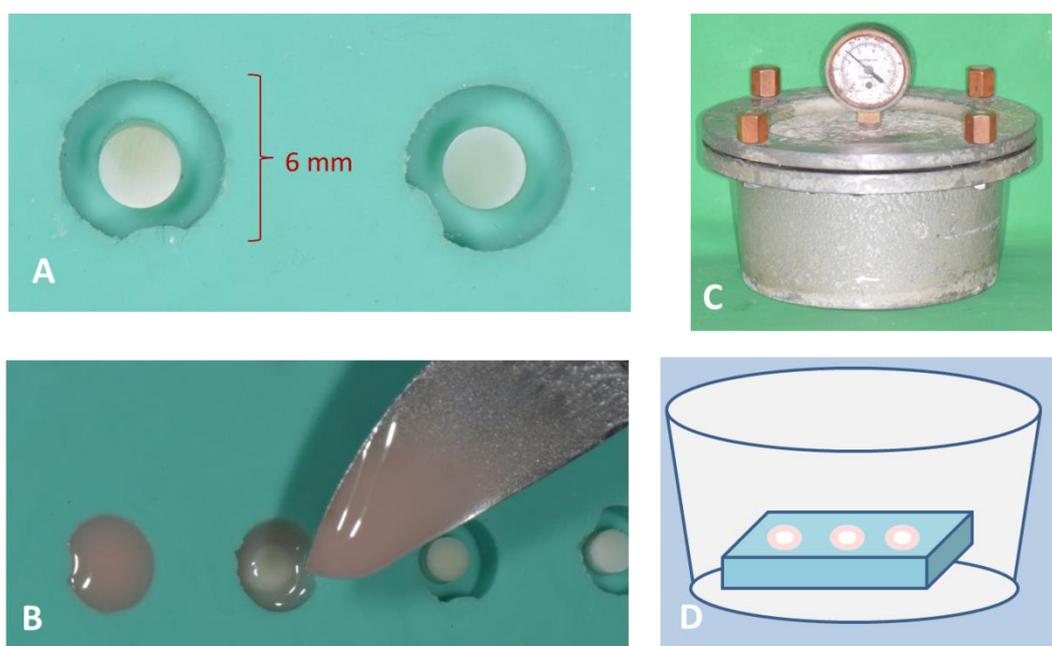


Figura 3 – A) Amostras posicionadas em matriz de silicone; B) Inserção de resina acrílica; C) Polimerizadora; D) Esquema da matriz inserida na polimerizadora.

Para planificação e polimento da superfície externa de resina acrílica, os espécimes embutidos foram posicionados em outro dispositivo metálico com um orifício na superfície do parafuso central, no qual acomoda a superfície de esmalte que está desnivelada pela presença de 0,1 mm de esmalte proveniente do embutimento na matriz de silicone, e levados na plataforma giratória da politriz, utilizando lixas de carbetto de silício de granulação P800, a fim de se obter paralelismo entre as superfícies polidas e a base de metal no qual foram fixados os espécimes (Figura 4A). Da mesma maneira descrita anteriormente, já com a superfície de resina acrílica planificada,

realizou-se a planificação e polimento da superfície com o esmalte dental (Figura 4B). Foram usadas lixas de carbeto de silício de granulação P800 até que a superfície de esmalte estivesse paralelo com a superfície de resina formando um só plano, granulação P2400 por 1 minuto e granulação P4000 por 2 min, todas em velocidade de operação a 600 rpm da politriz circular (Borges et al., 2012). As amostras receberam um banho de ultrassom (UltrasonicCleaner, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) a cada troca de lixa, com 200 ml de água deionizada durante 10 min, para remoção dos resíduos de grãos abrasivos que porventura interfiram na lisura do tecido. Os espécimes receberam um banho final realizado após a utilização da última lixa, e as amostras foram armazenadas em solução de timol a 0,1% para reidratação (Borges et al., 2012). Após uma análise em estereomicroscópio (Carl Zeiss – Stemi 2000 -20X), as amostras que apresentaram trincas e imperfeições foram descartadas (Torres et al., 2012). Realizou-se a microdureza inicial dos espécimes para estratificação dos grupos, de forma que todos os grupos exibam valores médios de microdureza semelhantes os quais diferenciavam-se em 10% apenas.

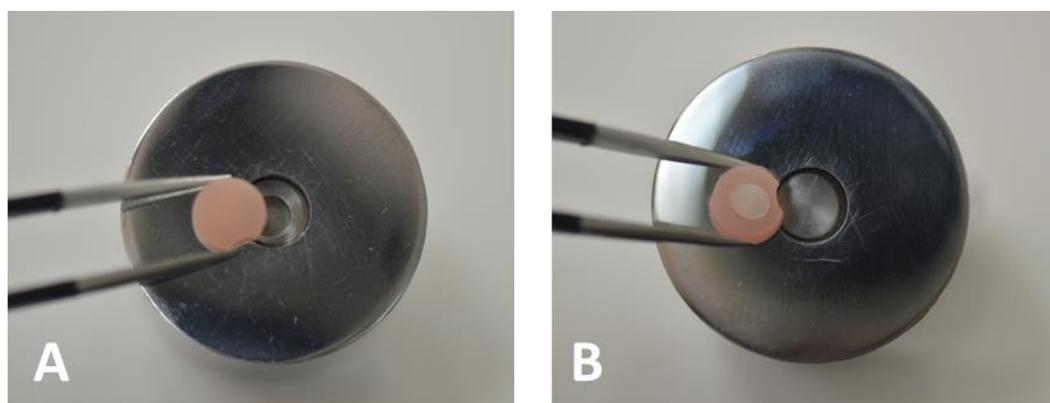


Figura 4 – A) Posicionamento para acabamento da face de resina acrílica; B) Posicionamento para acabamento e polimento da face de esmalte.

5.3.2 Divisão dos grupos

Foram utilizados 104 espécimes de esmalte bovino, distribuídos de forma aleatória em oito grupos (n=13), descritos na Figura 5, de acordo com o tipo de polímero.

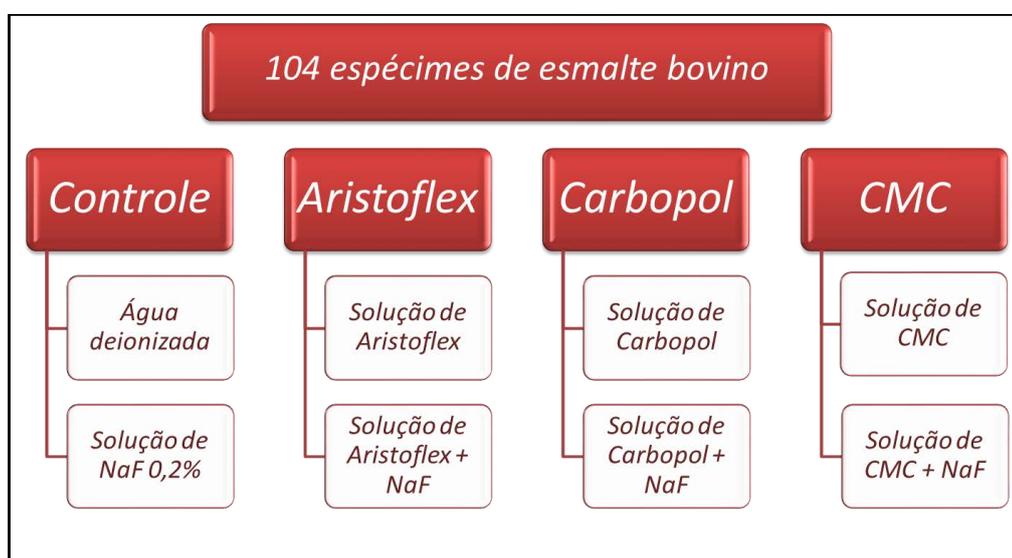


Figura 5- Divisão das amostras em grupo.

5.3.3 Preparo das soluções

Os reagentes químicos utilizados para o preparo das soluções de tratamento foram o NaF (Labsynth Ltda., Diadema, SP, Brasil), Aristoflex (PharmaSpecial, Ltda., Santana de Parnaíba, SP, Brasil), Carbopol (Noveon Inc., Cleveland, OH, EUA) e Carboximetilcelulose (Labsynth Ltda., Diadema, SP, Brasil).

Para todas as soluções preparadas padronizamos a

medida de 0,1 g de cada polímero testado, os agentes foram pesados utilizando uma balança analítica XP204 (Mettler Toledo International Inc. e Com. Ltda, Barueri, SP, Brasil) (Figura 6A), dissolvidos em 100 mL de água ultra pura, tomando-se o cuidado de preparar as soluções a uma temperatura de 25 °C (± 1 °C). Esta temperatura foi controlada para que a viscosidade cinemática do líquido não fosse alterada e foi indicada pelo fabricante do Copo Ford número 4 (Hipperquímica, Comercial Científica Ltda., Santo André, SP, Brasil) utilizado posteriormente ao preparo da solução. Os reagentes foram inseridos sobre a água ultra pura em um compartimento específico para utilização do agitador, e para os grupos associados ao NaF, este foi inserido juntamente com o polímero em questão a ser associado, obtendo-se assim, ao final das agitações, as soluções com ou sem associação de polímeros com NaF. As soluções foram submetidas a um agitador a 1.500 rpm por 10 min SpeedMixer (FlackTek Inc. SpeedMixer, Landrun, SC, EUA) para uma mistura homogênea dos componentes (Figura 6B).



Figura 6 - A) Balança de precisão; B) Agitador Speed Mixer.

O pH de todas as soluções utilizadas foi padronizado em 4,5 ajustado com KOH 0,1 M para elevar o PH natural e com ácido clorídrico para abaixar o pH natural das soluções. Após o preparo as soluções foram armazenadas em ambiente resfriado.

5.3.4 Padronização da viscosidade das soluções

A concentração dos polímeros que foram usados no estudo foi determinada com base em estudos pilotos, nos quais a viscosidade das soluções foi testada para que todas as soluções pudessem ser utilizadas como enxaguatório bucal. Para determinar e

padronizar a viscosidade das soluções, foi utilizado o Copo Ford número 4 (Hipperquímica, Comercial Científica Ltda., Santo André, SP, Brasil) (Figura 7). O reservatório do copo foi totalmente preenchido com as soluções a serem testadas e, de acordo com o tempo de escoamento em segundos das mesmas (t), marcado com auxílio de um cronômetro digital, foi calculada a viscosidade cinemática (cSt) expressa em mm/s², utilizando a seguinte equação:

$$(\text{cSt}) v = 3,85 (t - 4,49)$$

Tomou-se como base o valor da viscosidade da água purificada tipo I ($23,27 \pm 0,11 \text{ mm/s}^2$) e de um enxaguatório bucal disponível comercialmente ($24,23 \pm 0,03 \text{ mm/s}^2$) (Periogard, Colgate Palmolive Ltda., São Bernardo do Campo, SP, Brasil).

O tempo de escoamento foi aferido três vezes e o valor médio das aferições foi usado na fórmula descrita anteriormente.



Figura 7- Viscosímetro Copo Ford.

5.3.4 Ciclagem dos espécimes

5.3.4.1 Desafio erosivo e tratamento com as soluções

Para o desafio erosivo foi utilizada uma solução de ácido cítrico a 0.3%, com pH natural (2,6) (Dinâmica Ltda., Diadema, SP, Brasil). Os espécimes foram imersos em ácido durante 2 min, sob temperatura ambiente. Após este período, foram lavados com água deionizada.

O tratamento diário dos espécimes (Figura 8) consiste na imersão das amostras na solução contendo os polímeros associado ou não ao fluoreto de sódio durante 1 min (2 vezes/dia), sendo a primeira imersão após a primeira exposição ao ácido e a segunda imersão após a última imersão ao ácido. No total, os espécimes foram expostos 6 vezes ao ácido cítrico a cada dia de ciclo. Após cada imersão no ácido, as amostras foram cuidadosamente lavadas em água destilada, em seguida imersas em saliva artificial com tempos de 30 min, antes do tratamento e 1 h entre as exposições ao ácido cítrico. Ao serem removidos da saliva, os espécimes foram, imediatamente, imersos em solução para tratamento e em seguida imersos novamente em saliva. A ciclagem dos espécimes foi repetida por 5 dias.

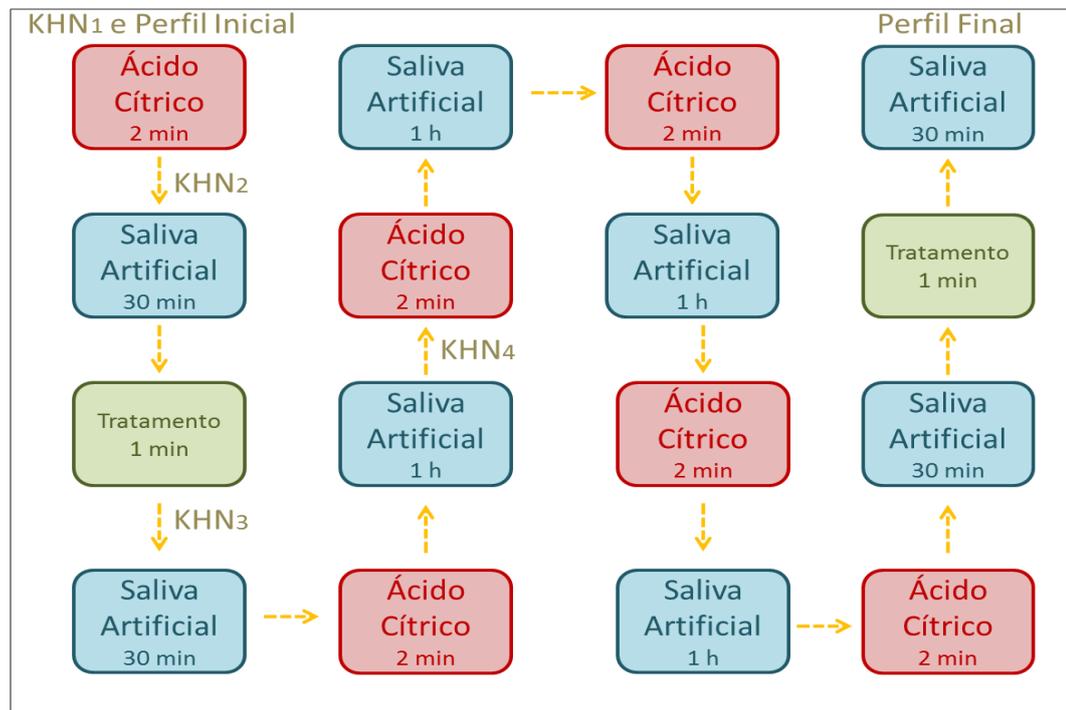


Figura 8 - Esquema do ciclo erosivo e tratamentos ao final de um dia. KHN representam os momentos de leitura da microdureza assim como as leituras dos perfis inicial (antes de iniciar o ciclo erosivo) e final (após o quinto dia de ciclo erosivo).

5.3.5 Ensaio de Microdureza

O ensaio de microdureza objetivou avaliar a erosão inicial nas amostras (desmineralização inicial da superfície do esmalte) (Lussi et al., 1993) e neste estudo foi realizado em quatro momentos:

- antes da ciclagem dos espécimes, a fim de se obter a dureza inicial do esmalte sadio;
- após a primeira imersão em ácido (2 min) para se obter o valor de dureza após desmineralização inicial;

- c) após o primeiro tratamento, a fim de se avaliar a provável ação remineralizante das soluções;
- d) ao final do segundo desafio erosivo do primeiro dia (após 2 imersões no ácido, equivalente a 4 min no total, intercalado com 1 imersão na solução de tratamento, equivalente a 1 min), e imersão em saliva artificial a fim de ser obtidos os valores de dureza do esmalte após o desafio erosivo inicial.

Os valores de microdureza foram obtidos com indentador Knoop montado em microdurômetro (FM-700, Future-Tech, Tóquio, Japão) (Figura 9), com aplicação de carga de 50 g durante 10 s (Borges et al., 2012). Realizou-se três endentações na parte inferior dos espécimes (de forma a não interferir com a leitura do perfil), com distância de 100 μm entre elas, e obtido o valor médio de dureza.

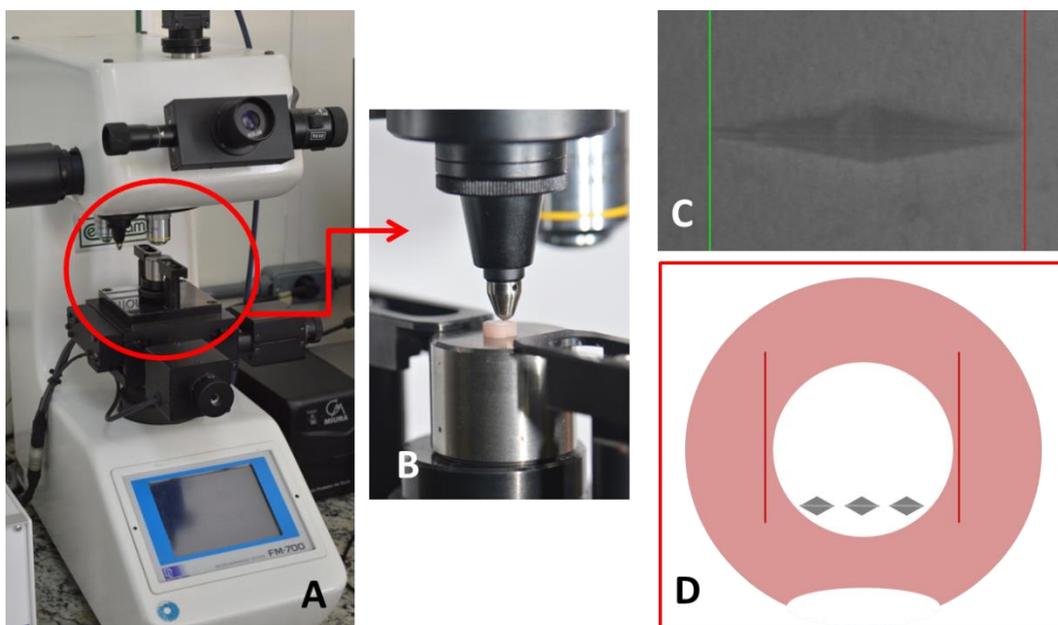


Figura 9 - A) Microdurômetro; B) Amostra em posição no microdurômetro; C) Imagem de uma endentação em esmalte; D) Esquema com as leituras posicionadas na parte inferior do espécime.

5.3.6 Ensaio de Perfilometria

Para auxílio no teste de perfilometria, foram feitas duas marcações paralelas entre si nas laterais do esmalte na superfície da resina acrílica, com o auxílio de um dispositivo contendo uma ponta afiada (Figura 10). Estas marcações serviram como guias para orientação do posicionamento dos gráficos resultantes das leituras obtidas na análise perfilométrica, possibilitando a sobreposição dos perfis iniciais com os finais.

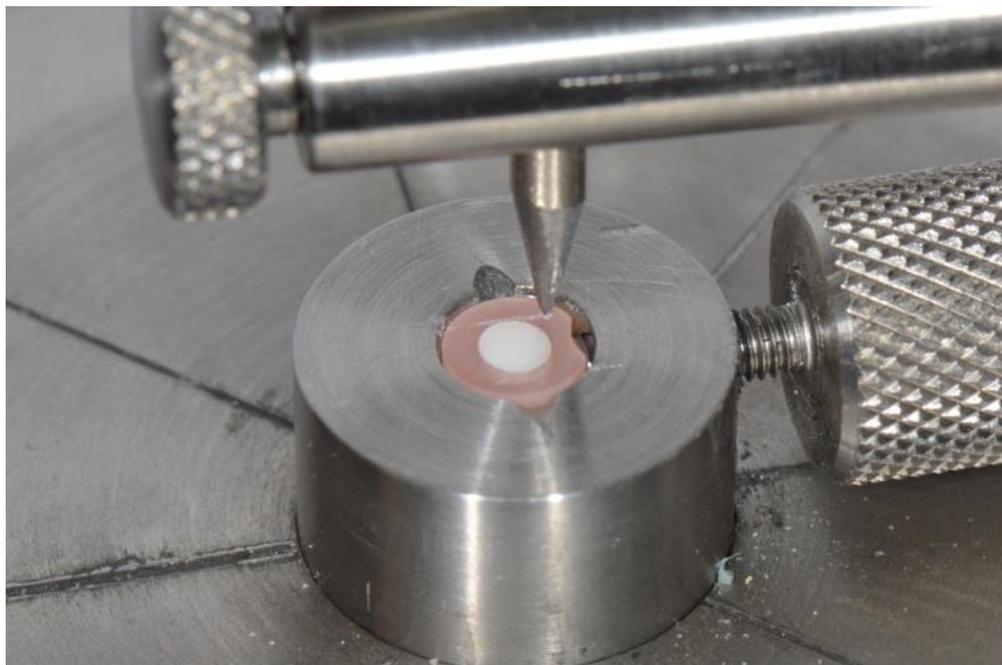


Figura 10- Amostra fixada em dispositivo de ponta afiada.

O ensaio de perfilometria foi realizado em dois momentos, sendo o primeiro prévio à ciclagem dos espécimes, e o segundo, após o término da ciclagem des-re ao final do quinto dia do ciclo erosivo, a fim de se obter as alterações relativas à perda de superfície do esmalte.

Os perfis foram obtidos com perfilômetro (MaxSurf XT 20, Mahr-Goettingen, Alemanha), realizando três varreduras com extensão de 4,2 mm e distância de 0,25 mm entre cada leitura (Figura 11).

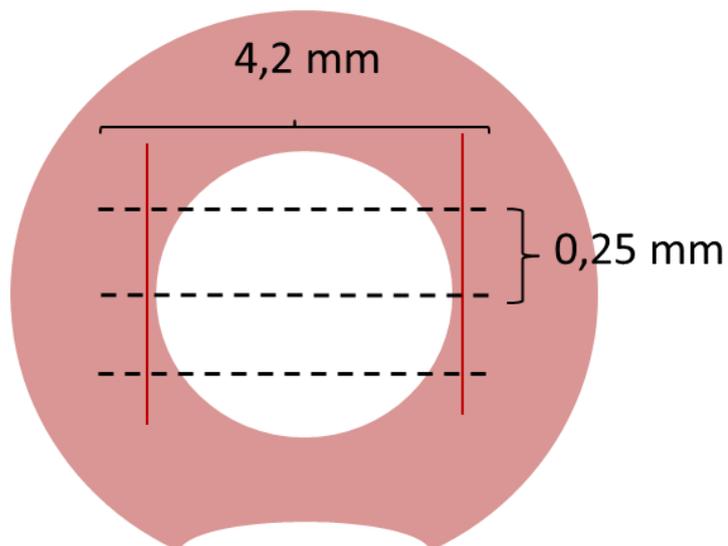


Figura 11 – Esquema das varreduras feitas para análise perfilométrica.

O desgaste do esmalte foi calculado após comparação entre os perfis iniciais e pós-tratamento, usando as estrias como guias. Após a sobreposição dos perfis, inicial e final, a altura resultante da diferença entre os mesmos determinou a perda de estrutura dental e esta foi calculada com auxílio de software (Mahr Surf XCR 20 4.50-07 SP3, 2011) (Figura 12).

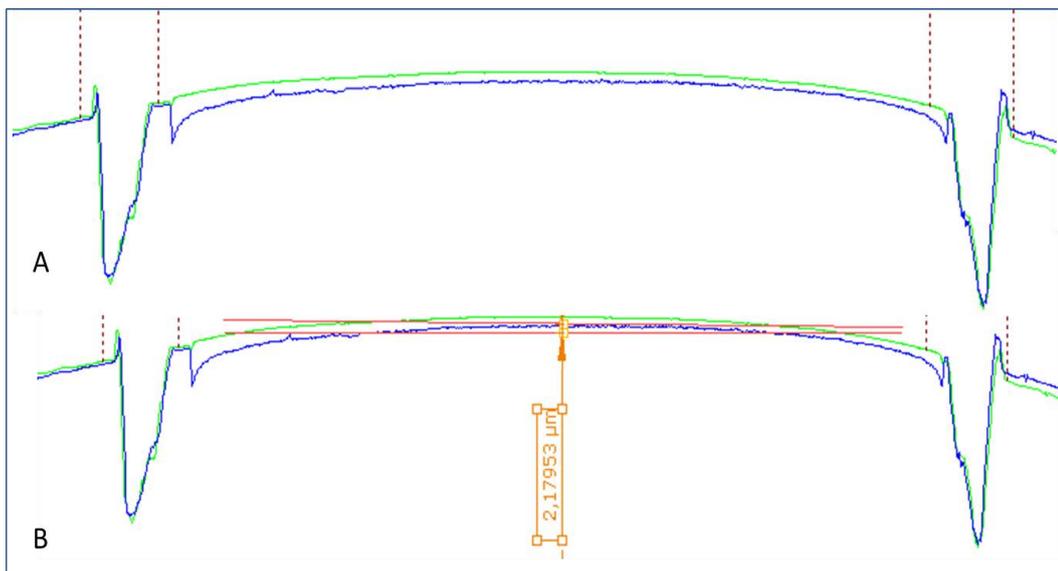


Figura 12 – A) Sobreposição dos perfis obtido antes (Verde) e após (Azul) a exposição ao ácido pelo software do perfilômetro. Observar os dois picos definidos no início e fim dos perfis, indicando a região onde as marcações prévias foram feitas; B) Valor da altura resultante da sobreposição dos perfis.

5.3.7 Definição da concentração de Flúor

Para determinar a concentração de flúor nas soluções, estas foram centrifugadas a 10000 rpm, por 10 min e 0,5 ml da solução foi misturado a 0,5 ml de TISAB II. A concentração de flúor foi determinada por um eletrodo sensível ao flúor (PerfectIon, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Suíça) e as análises foram feitas em triplicata (Ganss et al., 2011).

5.4 Planejamento Estatístico

As seguintes hipóteses nulas foram formuladas:

H01: Os diferentes polímeros associados ou não ao flúor não interferem na ação de remineralização da camada de desmineralização superficial (*softness*) do esmalte erodido, medida por microdureza;

H02: Os diferentes polímeros não influenciam a erosão inicial do esmalte dental, medida por microdureza e a perda de superfície do esmalte ao final de diversos desafios erosivos, medida por perfilometria;

H03: Os diferentes polímeros não influenciam no efeito protetor do fluoreto de sódio na erosão inicial do esmalte e na perda de superfície do mesmo.

A análise estatística foi realizada pelo software estatístico MiniTab 16.1.0 (2010 Minitab Inc., Pensilvânia, EUA) para se obter a estatística descritiva e inferencial (ANOVA dois fatores) de cada leitura realizada pela análise de microdureza e os valores de sobreposição da análise perfilométrica. Em seguida, no software estatístico Graphpad Prism (Graphpad Prism Software Inc., Califórnia, EUA) os resultados foram submetidos ao teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Os valores de microdureza e perfilometria foram separados de acordo com os respectivos grupos experimentais e tiveram suas médias e desvio padrão calculados. Para a análise

estatística foram utilizados os valores de alteração percentual de cada leitura da análise de microdureza, para isso utilizou-se a fórmula:

$$\text{(KHN final} - \text{KHN inicial / KHN inicial)} * 100$$

As variáveis em análise utilizadas foram as leituras utilizadas como *baseline* (primeiro desafio erosivo), após os tratamentos e após um segundo desafio erosivo.

6 RESULTADOS

Os valores de pH inicial das soluções utilizadas estão apresentados na Tabela 1, bem como os valores de viscosidade (mm/s^2), medidos após o ajuste do pH das mesmas para 4,5, e a disponibilidade de flúor nas soluções (expressa em ppm) .

Tabela 1 – Soluções de tratamento testadas com respectivos valores iniciais de pH, viscosidade média (DP) após o ajuste de pH para 4,5 e disponibilidade média de flúor (DP) expressa em ppm

Soluções	pH inicial	Viscosidade mm/s^2 (25°C)	Disponibilidade de Flúor
NaF 0,2%	6,3	$23,19 \pm 0,03$	$937,59 \pm 0,36$
Aristoflex + NaF	6,1	$23,27 \pm 0,04$	$902,68 \pm 1,12$
Aristoflex	5,7	$24,23 \pm 0,04$	0
Carbopol + NaF	4,4	$23,42 \pm 0,01$	$882,11 \pm 2,54$
Carbopol	4,2	$24,19 \pm 0,08$	0
CMC + NaF	6,4	$24,62 \pm 0,05$	$987,31 \pm 0,20$
CMC	6,7	$23,42 \pm 0,09$	0

6.1 Análise de Microdureza

A análise estatística para os valores do ensaio de microdureza foi feita a partir dos valores de alteração percentual conforme descrito anteriormente. Os valores obtidos aparecem em

duas fases: alteração percentual do tratamento (KHN_3) em relação a erosão inicial (KHN_2), com o objetivo de avaliar a remineralização da camada superficial desmineralizada (*softness*); e alteração percentual da erosão (após tratamento KHN_4) em relação a erosão inicial (KHN_2), com o objetivo de avaliar o efeito protetor dos tratamentos testados frente ao novo desafio ácido (erosão inicial). Nesta análise, os valores mais altos indicam queda de microdureza e, portanto, pior comportamento dos agentes.

6.1.1 Remineralização (KHN_3 em relação ao KHN_2)

Os valores de média e desvio-padrão dos dados de alteração de percentual da microdureza Knoop, segundo os grupos, estão ilustrados na Figura 13, por meio de gráficos de coluna. Os valores da estatística descritiva e inferencial (ANOVA 2 fatores) se encontram na Tabela 2. Os valores de média (DP) estão representados na Tabela 3, seguindo a associação ou não com flúor, com os respectivos resultados do teste de comparações múltiplas.

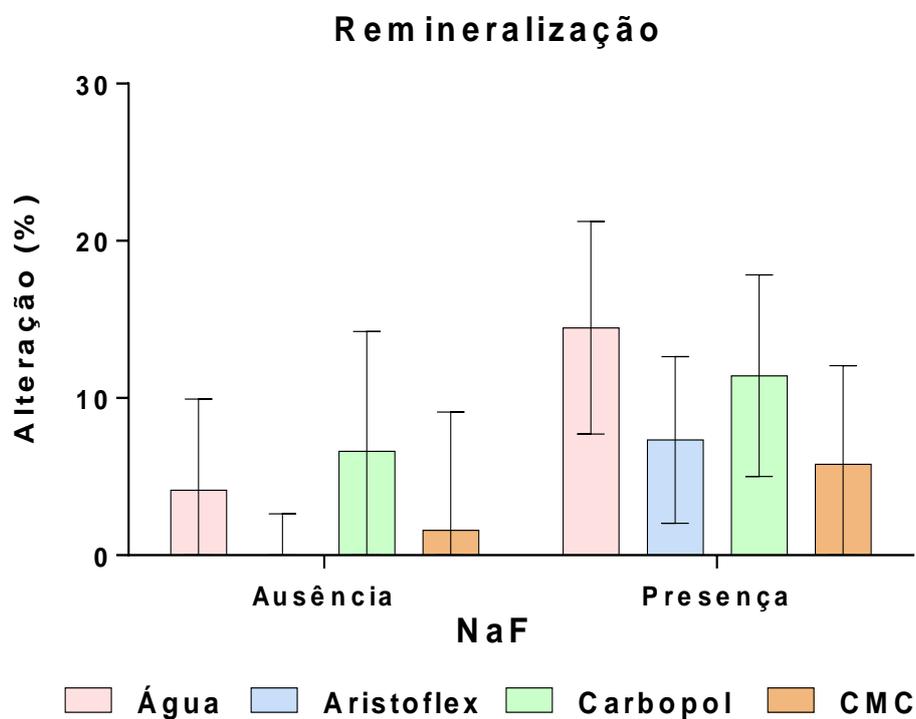


Figura 13 – Gráfico de colunas representando os valores de média e desvio padrão da alteração da microdureza segundo os grupos de acordo com a ausência e presença de flúor.

Tabela 2 – Resultados do teste ANOVA (2 fatores) para os dados obtidos no ensaio de microdureza (efeito remineralizante)

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Polímeros	3	829,81	276,60	7,08	<0,001*
NaF	1	1210,25	1210,25	30,96	<0,001*
Interação	3	159,71	53,24	1,36	0,259

*p<0,05

Tabela 3 – Média (\pm DP) e resultados do teste de comparações múltiplas para os dados obtidos na análise do potencial remineralizante de acordo com a alteração da microdureza da superfície do esmalte

Tratamentos	NaF*	
	Ausência	Presença
Aristoflex	0,63 \pm 3,26 Aa	7,33 \pm 5,30 Ab
CMC	1,60 \pm 7,50 Aa	5,80 \pm 6,25 Aa
Carbopol	6,61 \pm 7,61 Aa	11,42 \pm 6,41 Ba
Água	4,14 \pm 5,78 Aa	14,47 \pm 6,75 Bb

*Letras maiúsculas mostram diferença nas colunas e letras minúsculas mostram diferença nas linhas

A Figura 14 representa os valores médios da alteração da microdureza (após tratamento) de acordo com o efeito dos polímeros na ausência e presença de flúor e as médias do efeito da presença de flúor nas soluções.

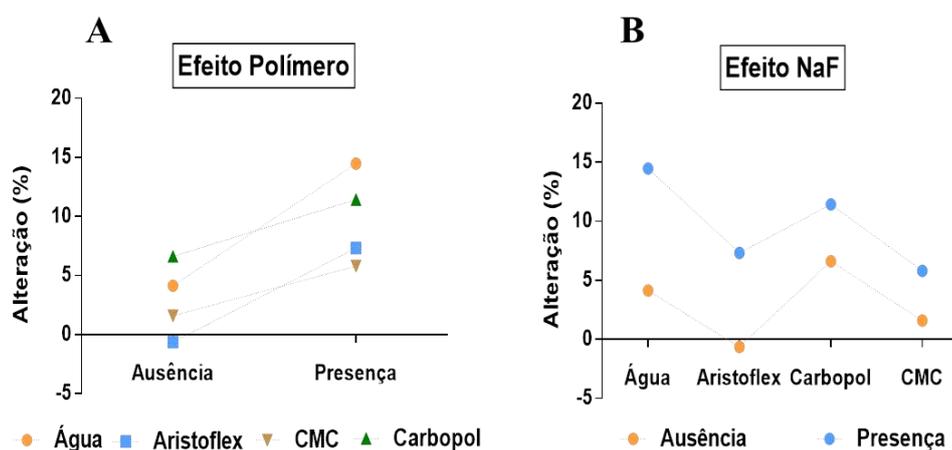


Figura 14 – A) Valores médios da alteração da microdureza (remineralização) sob o efeito dos polímeros na ausência e presença de flúor; B) Valores médios da alteração da microdureza (remineralização) sob o efeito do flúor nas soluções.

6.1.2 Efeito protetor (KHN_4 em relação ao KHN_2)

Os valores de média e desvio-padrão da alteração de percentual da microdureza Knoop, segundo os grupos, estão ilustrados na Figura 15 por meio de gráficos de coluna. Os valores da estatística descritiva e inferencial (ANOVA 2 fatores) se encontram na Tabela 4. Os valores de média (DP) estão representados na Tabela 5, seguindo a associação ou não com flúor, com os respectivos resultados do teste de comparações múltiplas.

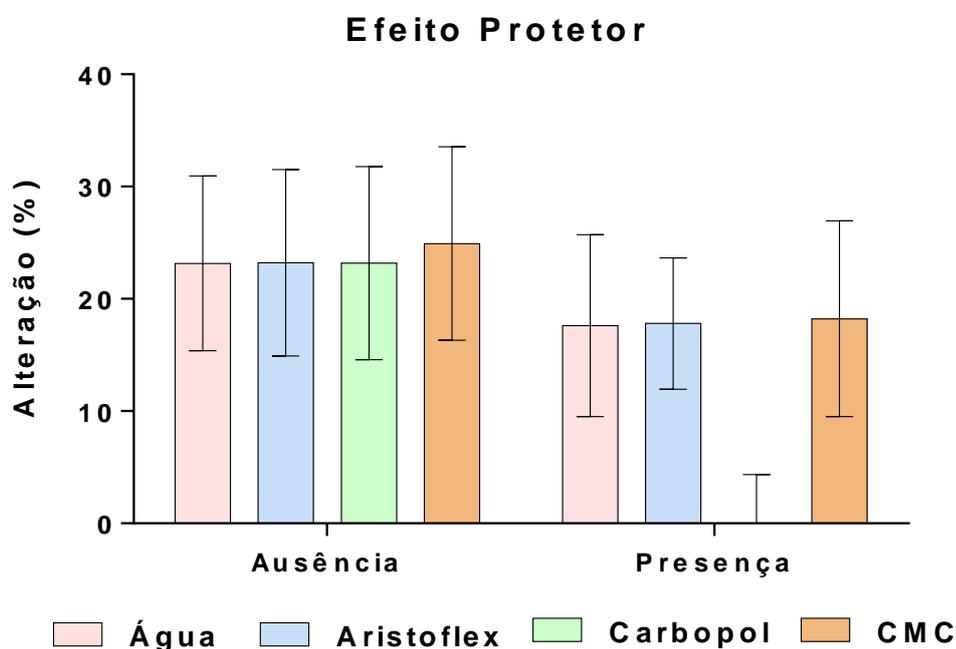


Figura 15 – Gráfico de colunas representando os valores de média e desvio padrão da alteração da microdureza segundo os grupos de acordo com a ausência e presença de flúor.

Tabela 4 – Dados do teste ANOVA (2 fatores) para os dados obtidos no ensaio de microdureza (análise do efeito protetor dos tratamentos)

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Polímeros	3	2268,7	756,25	11,92	<0,001*
NaF	1	3122,4	3122,4	49,21	<0,001*
Interação	3	2013,5	671,2	10,58	<0,001*

*p<0,05

Tabela 5 – Média (\pm DP) e resultados do teste de comparações múltiplas para os dados obtidos na análise do efeito protetor de acordo com a alteração da microdureza da superfície do esmalte

Tratamentos	NaF*	
	Ausência	Presença
Aristoflex	23,21 \pm 8,30 Aa	17,80 \pm 5,84 Aa
CMC	24,93 \pm 8,61 Aa	18,22 \pm 8,72 Aa
Carbopol	23,18 \pm 8,60 Aa	-3,00 \pm 7,34 Bb
Água	23,15 \pm 7,78 Aa	17,61 \pm 8,10 Aa

*Letras maiúsculas mostram diferença nas colunas e letras minúsculas mostram diferença nas linhas

A Figura 16 representa os valores médios da alteração da microdureza dos grupos de acordo com o efeito dos polímeros na ausência e presença de flúor e as médias do efeito da presença de flúor nas soluções.

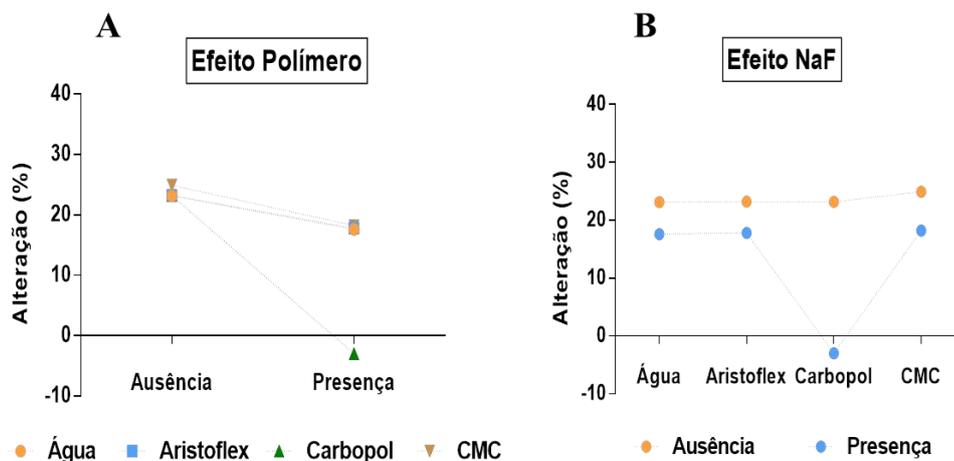


Figura 16 – A) Valores médios da alteração da microdureza (efeito protetor dos tratamentos) sob o efeito dos polímeros na ausência e presença de flúor; B) Valores médios da alteração da microdureza (efeito protetor dos tratamentos) sob o efeito do flúor nas soluções.

6.2 Análise de Perfilometria

Os valores de média e desvio padrão da análise de perfilometria, em μm , segundo os grupos, estão ilustrados na Figura 17 por meio de gráficos de coluna. Os valores obtidos da estatística descritiva e inferencial (ANOVA 2 fatores) se encontram na tabela Tabela 6. Os valores de média (DP) estão representados na Tabela 7 seguindo a associação ou não com flúor com os respectivos resultados do teste de comparações múltiplas.

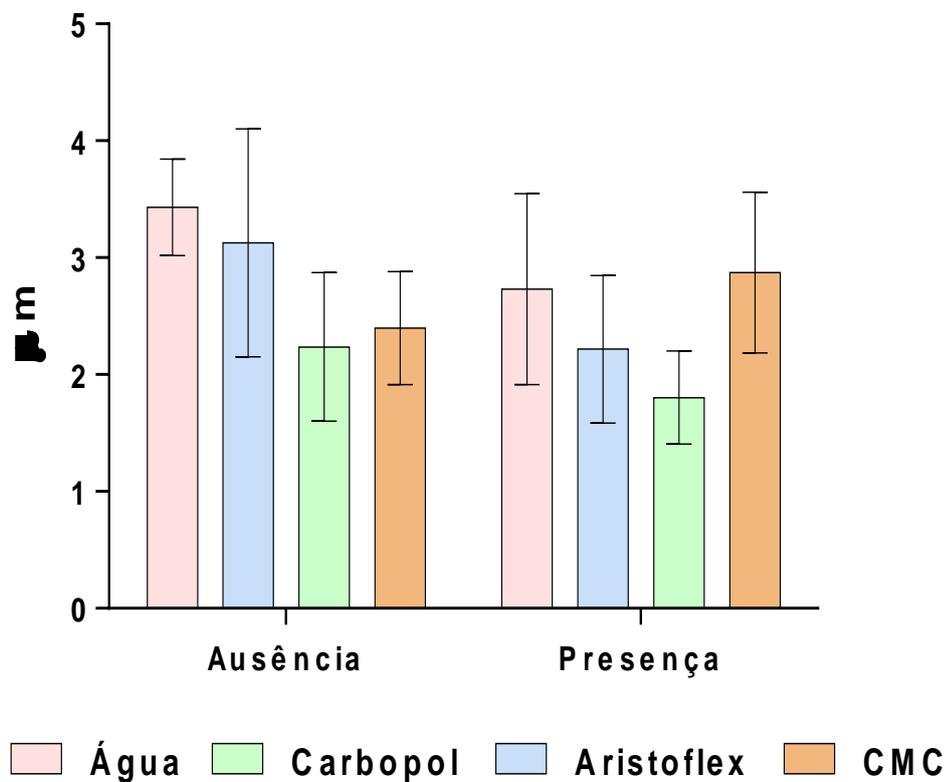


Figura 17 – Gráfico de colunas representando os valores de média e desvio padrão de desgaste em μm segundo os grupos de acordo com a ausência e presença de flúor.

Tabela 6 – Resultados do teste ANOVA (2 fatores) para os dados obtidos no ensaio de perfilometria

Efeito	gl	SQ	M	F	p
Polímeros	3	14,9186	4,9729	11,50	<0,0001*
NaF	1	4,0304	4,0304	9,32	0,003*
Interação	3	7,2982	2,4327	5,62	0,001*

*p<0,05

Tabela 7 – Média (\pm DP) e resultados do teste de comparações múltiplas para os dados obtidos na análise perfilométrica (μm) da superfície do esmalte

Tratamentos	NaF*	
	Ausência	Presença
Aristoflex	3,13 \pm 0,97 Aa	2,21 \pm 0,63 Ab
CMC	2,40 \pm 0,48 Aa	2,87 \pm 0,69 Aa
Carbopol	2,23 \pm 0,63 Ba	1,80 \pm 0,40 Ba
Água	3,43 \pm 0,41 Aa	2,73 \pm 0,81 Ab

*Letras maiúsculas mostram diferença nas colunas e letras minúsculas mostram diferença nas linhas

A Figura 18 representa os valores médios de desgaste da superfície do esmalte após os tratamentos dos grupos de acordo com o efeito dos polímeros na ausência e presença de flúor e as médias do efeito da presença de flúor nas soluções.

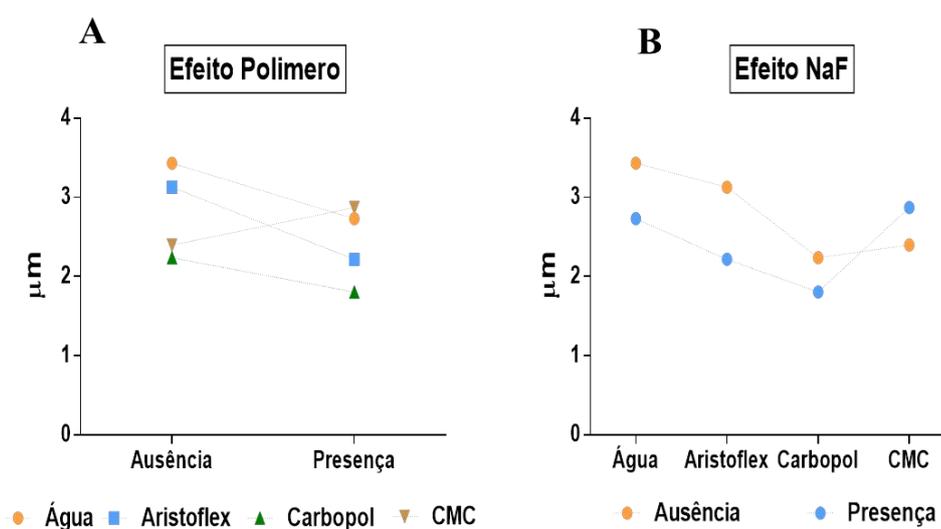


Figura 18 – A) Valores médios de desgaste do esmalte sob o efeito dos polímeros na ausência e presença de flúor; B) Valores médios de desgaste do esmalte considerando-se o efeito do flúor nas soluções.

7 DISCUSSÃO

A erosão dental é causada pelo contato frequente da estrutura dental com ácidos de origem extrínseca ou intrínseca. A fase inicial da erosão é caracterizada pelo amolecimento da superfície do esmalte. Durante esta fase o processo é considerado reversível, pois não há perda da estrutura mineral do esmalte, permitindo uma possível remineralização pela saliva (Amaechi, Higham, 2001; Buzalaf et al., 2012) ou por agentes remineralizantes (Karlinsky et al., 2012; Magalhaes et al., 2014). Se a exposição a soluções ácidas ocorrer de forma contínua, o resultado será a dissolução e consequente perda da estrutura de esmalte, sendo este processo irreversível (Ganss et al., 2011).

As alterações iniciais da estrutura dental submetida a agentes erosivos (antes que ocorra a perda da estrutura dental) podem ser medidas por meio da análise de microdureza superficial do esmalte, sendo este método capaz de mensurar a resistência do substrato por meio de endentações (Barbour et al., 2005). A ponta de diamante Knoop possui maior potencial de detecção de mudanças na camada mais superficial de uma lesão erosiva, pois sua profundidade de penetração é menor, em torno de 1,5 μm (Ganss et al., 2011), comparada à ponta Vickers, a qual apresenta uma profundidade de penetração em torno de 5 μm (Attin, 2006). Com o transcorrer do desafio erosivo esta camada amolecida superficial atinge um estágio

inativo ou é removida, tornando-se inadequado este método de avaliação (Shellis et al., 2011). Desta forma no presente estudo, foram feitas quatro mensurações da microdureza, sendo a primeira inicial, antes do contato entre a superfície de esmalte com o agente erosivo, apenas para distribuição dos espécimes entre os grupos. A segunda mensuração foi realizada após o primeiro contato com o ácido cítrico, por dois minutos. A terceira mensuração foi feita após o primeiro contato com as soluções de tratamento testadas e finalmente a quarta mensuração foi realizada após o contato com ácido cítrico por mais dois minutos, para avaliar a capacidade de proteção das soluções testadas contra um novo desafio erosivo. As endentações iniciais permaneceram visíveis ao microscópio mesmo na última leitura de microdureza, indicando que não houve perda de estrutura neste estágio do experimento.

Nos estágios mais avançados da erosão dentária, ocorre a perda de estrutura dental, sendo assim a análise perfilométrica se torna o método mais adequado de quantificação do desgaste erosivo (Ganss, Lussi, 2006b). Neste estudo, a análise perfilométrica por contato foi realizada, com objetivo de quantificar a perda de substância do esmalte dental. Para tal, foi realizada a leitura inicial, antes do início do ciclo erosivo e após o quinto dia do ciclo erosivo. As mensurações realizadas basearam-se no apalpamento de uma ponta diamantada, previamente montada no equipamento Perfilômetro, realizando três marcações na superfície do esmalte da amostra, previamente embutida em resina acrílica e tomando como referência as marcações em forma de sulco previamente confeccionadas nas superfícies de resina de embutimento. Os perfis obtidos nas leituras

iniciais e finais foram sobrepostos, utilizando como guia as marcações feitas durante o preparo dos espécimes e, a partir desta sobreposição, a diferença de altura média entre elas era obtida, obtendo-se assim o valor em μm da perda de estrutura. Para Attin et al. (2009), a importância do reposicionamento dos espécimes para as mensurações repetidas, está relacionado ao resultado mais fiel da análise, assim como o uso de software apropriado para a realização das análises. Sendo assim, esta análise foi possível devido ao fato de que os espécimes foram reposicionados exatamente no mesmo local em todas as mensurações.

Como uma opção para o tratamento contra a desmineralização dental, o fluoreto de sódio apresenta efeito comprovado na ação de prevenção da desmineralização e na remineralização de esmalte dental em processos cariosos (ten Cate, Featherstone, 1991) e vem sendo amplamente estudado quanto aos seus efeitos no esmalte desmineralizado em diferentes concentrações, consistências, formas de aplicação e por processos de erosão de diferentes etiologias (Magalhaes et al., 2007; Ganss et al., 2008; Magalhães et al., 2009b; White et al., 2012; Scaramucci et al., 2013).

No que se diz respeito ao efeito protetor e potencial remineralizante da estrutura dental erodida, os fluoretos de uso tópico têm sido investigados sob diversas formas (fluoreto de sódio, fluoreto de amina, fluoreto estanhoso, tatrafluoreto de titânio), concentrações e apresentações. O mercado dispõe de diversos produtos de higiene bucal para prevenção e controle da cárie dentária, como dentifrícios e enxaguatórios bucais. Enxaguatórios bucais são ótimas opções para complementação da higiene bucal, pois são produtos de uso caseiro de

alta frequência,. Desta forma, seu uso como agente protetor contra o desenvolvimento da erosão dental também seria interessante, principalmente para aqueles pacientes com alto risco de desenvolvimento da erosão, tais como portadores de doenças gástricas ou psicopatológicas, como o refluxo gástrico e a bulimia, respectivamente, ou para os indivíduos que apresentam consumo inadequado e excessivo de alimentos e bebidas ácidas.

Atualmente, existe somente um enxaguatório bucal, disponível comercialmente, específico para erosão dental. Este é produzido à base de fluoreto de sódio, fluoreto de amina e cloreto de estanho, e é comercializado somente na Europa (Elmex Erosion[®]).

Vários tipos de compostos fluoretados têm sido testados para controlar a erosão dental, mas a literatura científica ainda apresenta questionamentos quanto aos seus efeitos protetor e/ou remineralizante (Ganss et al., 2008). Por serem frequentemente utilizados como um agente anticárie e, por isso, presente em diversos enxaguatórios comercialmente disponíveis, o fluoreto de sódio foi investigado neste estudo. Sabe-se que este composto apresenta ação protetora contra o desafio erosivo, no entanto, este efeito é limitado (Ganss et al., 2004; Zero, 2006). Desta forma, sua associação com polímeros com propriedades bioadesivas seria interessante, como forma de aumentar sua substantividade e, portanto, seus efeitos benéficos sobre a erosão dental. A literatura apresenta poucos estudos que propõem ou avaliam polímeros sob a forma enxaguatórios com a finalidade de prevenir ou controlar a erosão dental.

A formação de depósitos do tipo fluoreto de cálcio na superfície do esmalte tratada com solução de NaF está associada à sua

concentração, tempo de aplicação e pH (Petzold, 2001). O baixo pH da solução de NaF é desejável a fim de favorecer a deposição de estruturas globulares semelhantes ao fluoreto de cálcio na superfície dental tratada, pois esta camada comporta-se como uma barreira física que dificulta o contato do ácido com o esmalte subjacente ou atua como um reservatório mineral o qual será atacado pelo desafio erosivo (Magalhaes et al., 2011). Portanto, optou-se neste estudo por ajustar o pH das soluções para 4,5. Adicionalmente, o pH ácido das soluções permitiu a manutenção da baixa viscosidade das soluções, já que polímeros como o CMC tendem a geleificar com o pH próximo ao 6,0, inviabilizando seu uso como solução para enxaguatório bucal.

Associado às soluções fluoretadas, polímeros bioadesivos foram testados (Aristoflex, Carbopol e Carboximetil celulose), visando o potencial de aumento da substantividade das soluções e seu provável efeito sinérgico protetor. Os valores obtidos pela análise de microdureza, para o potencial remineralizante, demonstraram que os polímeros, não associados ao NaF, não apresentam efeito de remineralização da camada de *softness*, apresentando valores semelhantes aos da água. Associados ao NaF, o grupo Aristoflex e o CMC reduziram o potencial remineralizante do fluoreto, interferindo negativamente na sua capacidade de endurecimento da camada de *softness* do esmalte. Já o Carbopol não afetou a ação de remineralização do NaF, apresentando valores estatisticamente similares ao grupo NaF.

Os valores obtidos pela última análise de microdureza, realizada após o contato do ácido cítrico e posterior ao primeiro tratamento com a solução, para avaliar o efeito protetor das soluções,

demonstraram que para os grupos sem a associação com o NaF, nenhum polímero apresentou efeito protetor contra a erosão inicial, pois eles exibiram comportamento semelhante ao da água. Para os grupos com os polímeros associados ao NaF, o grupo Carbopol promoveu um efeito protetor contra erosão inicial, significativamente maior do que as outras soluções testadas, inclusive o controle positivo, a solução de NaF (Tabela 5).

Os resultados obtidos com relação ao desgaste, por meio da análise perfilométrica, para os grupos sem a associação dos polímeros com o NaF mostraram que o grupo da água apresentou valores semelhantes ao grupo Aristoflex, mas que o grupo Carbopol apresentou diferença significativa (Tabela 7). Portanto, ação protetora dos polímeros por si só (sem flúor) foi observada apenas para o Carbopol. A associação do Carbopol à solução fluoretada, promoveu a diminuição do desgaste do esmalte. Em outras palavras, a adição de Carbopol à solução de NaF aumentou seu efeito protetor contra erosão em esmalte em comparação ao NaF sozinho. Desta forma, a hipótese de igualdade testada quanto à ação dos polímeros no desgaste do esmalte foi rejeitada para os polímeros Carbopol após o final de cinco dias de ciclo erosivo e, quanto aos polímeros associados ao NaF, também foi rejeitada o grupo Carbopol+NaF, pois este agente foi capaz de aumentar o efeito protetor do NaF na perda de superfície do esmalte.

Zaman et al. (2010) investigaram o efeito do Carbopol 974P, como agente bioadesivo associado ao glicerol e polietileno glicol, em relação a sua capacidade de retenção de agentes ativos na superfície da hidroxiapatita. Os autores avaliaram as propriedades

protetoras por meio de trabalho de adesão e força máxima de deslocamento das formulações e observaram que o Carbopol aumentou os parâmetros de bio-aderência dos agentes ativos à hidroxiapatita. Desta forma, pode-se especular que neste trabalho, a ação protetora apresentada pelo Carbopol, principalmente quando associado ao NaF pode ser justificada pelo aumento da bio-aderência à superfície de esmalte erodido, fato que foi observado tanto para análise de perfilometria quanto para a microdureza. Assim, pode-se sugerir que, dentre os polímeros testados, o Carbopol apresentou as melhores propriedades bioadesivas, formando provavelmente uma camada superficial sobre o esmalte, protegendo-o contra a ação do ácido.

O principal objetivo do bioadesivo como veículo de entrega é otimizar as formulações como uma tentativa de se aumentar a retenção e biodisponibilidade de substâncias ativas. Isto é importante principalmente para ativos de uso na cavidade oral, que precisam resistir à ação de limpeza promovida pelo fluxo salivar (Gracia et al., 2010). A bioadesão é afetada pelo ambiente biológico, as propriedades físicas do polímero e sua liberação controlada e a presença do agente protetor em si (Peppas, Sahlin, 1996). Os principais mecanismos relacionados à eficácia dos sistemas poliméricos como bioadesivos são o favorecimento da adsorção e difusão. A mucoadesão e a bioadesão de materiais, especialmente os hidrogéis, é o resultado de uma combinação de superfície e fenômenos difusionais que contribuem para formação de fortes pontes intercadeias entre o polímero e o meio biológico (Peppas, Sahlin, 1996).

A deposição de flúor à superfície do esmalte ocorre pela interação do fluoreto com os íons cálcio presentes na camada de hidratação da hidroxiapatita, formando assim o CaF_2 (Rolla, Bowen, 1978). O CMC é um polissacarídeo aniônico, de modo que é possível que tenha havido uma interação entre o CMC e a superfície do esmalte, formando um filme polissacarídeo adsorvido na superfície, mas prevenindo a interação do íon fluoreto com a camada de hidratação da hidroxiapatita, os polímeros podem, potencialmente, diminuir a remineralização potencializada pelo flúor, já que se aderem a superfície do esmalte, resultando na ausência de efeito sinérgico da associação do flúor com o polímero CMC.

No entanto, em um estudo prévio, o potencial anti-erosivo da associação de polímeros hidrossolúveis (CMC, Goma Xantana e Copovidona), isoladamente ou associados ao fluoreto de sódio, foi avaliada previamente *in vitro*. Os autores demonstraram a eficácia da associação de polímeros contra o desafio erosivo. No entanto, a redução da perda de tecido dental, medida por perfilometria, não foi significativamente maior para a associação de polímeros com o flúor, comparada ao uso da solução de fluoreto utilizada isoladamente (Gracia et al., 2010). Os autores propuseram a formação de uma barreira como modo mais provável de ação, entretanto ressaltam que o desafio erosivo utilizado em seu estudo é relativamente mais agressivo para o ácido cítrico a 1%, pH 3,8.

Desconhecemos na literatura relatos da utilização do polímero Aristoflex para uma possível prevenção à erosão dental, sendo assim a escolha quanto a sua utilização foi feita a partir de estudos pilotos e a expectativa de que este agente promovesse uma

maior substantividade do flúor. O Aristoflex AVC é um conhecido polímero utilizado na indústria de géis como um agente espessante que, apesar de ser formador de géis aniônicos, estáveis em pH neutro ou próximo do neutro, apresenta também estabilidade em pH ácido. No presente estudo, este composto apresentou menores perdas de superfície quando associado ao fluoreto, sendo inferior aos grupos com associação com o Carbopol, e não apresentou diferença significativa comparado ao CMC.

A padronização da concentração dos agentes em 0,1 g e do pH das soluções para 4,5 foi estabelecida de acordo com a viscosidade das soluções (permitindo seu uso como enxaguatório bucal) e teve o objetivo de eliminar possíveis fatores confundidores. Nestas especificações, o Carbopol apresentou os melhores resultados quanto a proteção contra o desafio erosivo, tanto na análise de microdureza como na análise perfilométrica. No entanto, estudos futuros devem ser conduzidos utilizando-se diferentes concentrações dos polímeros, bem como a associação de agentes, a fim de se investigar as condições mais favoráveis para que ocorra seu efeito protetor contra o desafio erosivo.

Deve-se ressaltar ainda, que neste estudo *in vitro*, no qual foi utilizada saliva artificial, não foi considerado o possível efeito protetor da película adquirida, que ocorre clinicamente (Hara et al., 2006; Wiegand et al., 2008). Adicionalmente, a adsorção da película altera a energia de superfície do substrato, podendo interferir nas propriedades bioadesivas à superfície do mesmo. Foi observado previamente que, na ausência de película, as forças adesivas de associação de polímeros bioadesivos à hidroxiapatita são maiores,

provavelmente devido à maior disponibilidade de sítios de ligação eletrostáticos na superfície da hidroxiapatita (Zaman et al., 2010).

Adicionalmente, há que se considerar que as propriedades bioadesivas tendem a aumentar a substantividade das formulações em condições *in vivo* (Zaman et al., 2010). Neste estudo, o fluxo salivar não foi simulado, o que poderia contribuir para a determinação do provável aumento da substantividade da solução fluoretada frente à ação de limpeza promovida pela saliva, influenciando seu efeito protetor contra a erosão. Desta forma, estudos futuros *in situ* devem ser realizados para determinar se as formulações testadas no laboratório exibem o efeito protetor também sob influência da presença do fluxo salivar. Nas condições intra-bucais, sítios adicionais de retenção dos fluoretos estão presentes nos tecidos moles (Zero et al., 1992) e possivelmente na película adquirida (White et al., 2012). Desta forma, possivelmente sua associação a agentes bioadesivos testada *in vivo* possa apresentar efeito protetor mais pronunciado do que o observado *in vitro*.

8 CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados nas condições experimentais deste trabalho, baseado nas hipóteses nulas consideradas, pode-se concluir que:

Os polímeros testados isoladamente (sem associação com NaF) não promoveram potencial remineralizante da camada de desmineralização superficial (*softness*) do esmalte erodido, medido por microdureza. O CMC e o Aristoflex foram indiferentes na capacidade de endurecimento da camada de *softness* do esmalte promovido pelo NaF e o Carbopol não afetou a ação de remineralização promovida pelo NaF.

O Carbopol, independente da associação, reduziu o desgaste do esmalte medido por perfilometria e a associação do Carbopol com NaF promoveu efeito protetor contra o desgaste erosivo significativamente maior do que as outras soluções testadas.

9 REFERÊNCIAS*

Addy M, Shellis RP. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:17-31.

Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent.* 2001;29(5):371-6.

Attin T, Wegehaupt FJ. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;25:123-42.

Attin T, Becker K, Roos M, Attin R, Paqué F. Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. *Clin Oral Investig.* 2009;13(4):473-8.

Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. An investigation of some food-approved polymers as agents to inhibit hydroxyapatite dissolution. *Eur J Oral Sci.* 2005;113(6):457-61.

Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:119-39.

Beyer M, Reichert J, Sigusch BW, Watts DC, Jandt KD. Morphology and structure of polymer layers protecting dental enamel against erosion. *Dental Materials.* 2012;28(10):1089-97.

Borges AB, Torres CR, de Souza PA, Caneppele TM, Santos LF, Magalhaes AC. Bleaching gels containing calcium and fluoride: effect on enamel erosion susceptibility. *Int J Dent.* 2012;2012:347848.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 20 ago 2013; acesso em 25 out 2014]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Büyükyılmaz T, Øgaard B, Rølla G. The resistance of titanium tetrafluoride-treated human enamel to strong hydrochloric acid. *Eur J Oral Sci.* 1997;105(5):473-7.

Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(5):493-502.

Buzalaf MA, Magalhães AC, Wiegand A. Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 2014;25:244-52.

Cheng ZJ, Wang XM, Cui FZ, Ge J, Yan JX. The enamel softening and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation. *Biomed Mater.* 2009;4(1):015020.

Christensen CM, Navazesh M. Anticipatory salivary flow to the sight of different foods. *Appetite.* 1984;5(4):307-15.

Churchley D, Rees GD, Barbu E, Nevell TG, Tsibouklis J. Fluoropolymers as low-surface-energy tooth coatings for oral care. *Int J Pharm.* 2008;352(1):44-9.

Eisenburger M, Hughes J, West NX, Jandt KD, Addy M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid erosion. *Caries Res.* 2000;34(4):289-94.

Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:66-76.

Gandara BK, MSD, Edmond L, Truelove M. Diagnosis and management of dental erosion. *J Contemp Dent Pract.* 1999;1(1):1-17.

Ganss C. Definition of erosion and links to tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006a;20:9-16.

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

Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 2001;35(5):325-30.

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

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(6):581-9.

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

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

Gracia LH, Brown A, Rees GD, Fowler CE. Studies on a novel combination polymer system: in vitro erosion prevention and promotion of fluoride uptake in human enamel. *J Dent.* 2010;38 Suppl 3:S4-11.

Graubart J, Gedalia I, Pisanti S. Effects of fluoride pretreatment in vitro on human teeth exposed to citrus juice. *J Dent Res.* 1972;51(6):1677.

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

Hove L, Holme B, Øgaard B, Willumsen T, Tveit A. The protective effect of TiF₄, SnF₂ and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res.* 2006;40(5):440-3.

Hove LH, Holme B, Young A, Bjørg Tveit A. The erosion-inhibiting effect of TiF₄, SnF₂, and NaF solutions on pellicle-covered enamel in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2007;65(5):259-64.

Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:60-8.

Karlinsey RL, Mackey AC, Blanken DD, Schwandt CS. Remineralization of eroded enamel lesions by simulated saliva in vitro. *Open Dent J.* 2012;6:170-6.

Larsen M, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1998;33(1):81-7.

Larsen MJ. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res.* 1990;69 Spec No:575-80; discussion 634-6.

Lee VM, Linden RW. An olfactory-submandibular salivary reflex in humans. *Exp Physiol.* 1992;77(1):221-4.

Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle-- a review. *Adv Dent Res.* 2000;14:22-8.

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

Lussi A, Hellwig E. Erosive potential of oral care products. *Caries Res.* 2001;35 Suppl 1:52-6.

Lussi A, Hellwig E. Risk assessment and preventive measures. *Monogr Oral Sci.* 2006b;20:190-9.

Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am J Dent.* 2006c;19(6):319-25.

Lussi A, Jaeggi T. Chemical factors. *Monogr Oral Sci.* 2006d;20:77-87.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38 Suppl 1:34-44.

Lussi A, Jaggi T, Scharer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res.* 1993;27(5):387-93.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion-an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:2-12.

Magalhaes AC, Kato MT, Rios D, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. The effect of an experimental 4% Tif4 varnish compared to NaF varnishes and 4% TiF4 solution on dental erosion in vitro. *Caries Res.* 2008;42(4):269-74.

Magalhaes AC, Levy FM, Souza BM, Cardoso CA, Cassiano LP, Pessan JP, et al. Inhibition of tooth erosion by milk containing

different fluoride concentrations: An in vitro study. *J Dent.* 2014;42(4):498-502.

Magalhaes AC, Rios D, Delbem AC, Buzalaf MA, Machado MA. Influence of fluoride dentifrice on brushing abrasion of eroded human enamel: an in situ/ex vivo study. *Caries Res.* 2007;41(1):77-9.

Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem ACB, Buzalaf MAR. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on the erosion of permanent and deciduous human enamel: an in situ/ex vivo study. *J Appl Oral Sci.* 2009a;17(1):56-60.

Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:158-70.

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

Margaritis V, Mamai-Homata E, Koletsi-Kounari H. Novel methods of balancing covariates for the assessment of dental erosion: a contribution to validation of a synthetic scoring system for erosive wear. *J Dent.* 2011;39(5):361-7.

Mason SC, Shirodaria S, Sufi F, Rees GD, Birkhed D. Evaluation of salivary fluoride retention from a new high fluoride mouthrinse. *J Dent.* 2010;38 Suppl 3:S30-6.

Maupome G, Diez-de-Bonilla J, Torres-Villasenor G, Andrade-Delgado LC, Castano VM. In vitro quantitative assessment of enamel microhardness after exposure to eroding immersion in a cola drink. *Caries Res.* 1998;32(2):148-53.

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

Monteiro CA, Mondini L, Costa RB. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Rev Saúde Pública.* 2000;34:251-8.

Moron BM, Miyazaki SS, Ito N, Wiegand A, Vilhena F, Buzalaf MA, et al. Impact of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on tooth erosion/abrasion in vitro. *Aust Dent J.* 2013;58(1):106-11.

Needleman IG, Smales FC, Martin GP. An investigation of bioadhesion for periodontal and oral mucosal drug delivery. *J Clin Periodontol.* 1997;24(6):394-400.

Peppas NA, Sahlin JJ. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials.* 1996;17(16):1553-61.

Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF₂ precipitation and microstructure. *Caries Res.* 2001;35 Suppl 1:45-51.

Rathbone MJ, Drummond BK, Tucker IG. The oral cavity as a site for systemic drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 1994;13(1):1-22.

Reed AJ, Bibby BG. Preliminary report on effect of topical applications of titanium tetrafluoride on dental caries. *J Dent Res.* 1976;55(3):357-8.

Ribeiro CC, Gibson I, Barbosa MA. The uptake of titanium ions by hydroxyapatite particles—structural changes and possible mechanisms. *Biomaterials.* 2006;27(9):1749-61.

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

Rolla G, Bowen WH. Surface adsorption of fluoride and ionic exchange reactions on hydroxyapatite. *Acta Odontol Scand.* 1978;36(4):219-24.

Saxegaard E, Rølla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Eur J Oral Sci.* 1988;96(6):523-35.

Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Frank NE, Hara AT. Sodium fluoride effect on erosion-abrasion under hyposalivatory simulating conditions. *Arch Oral Biol.* 2013;58(10):1457-63.

Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MA. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent.* 2011;39(12):841-8.

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

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:69-77.

ten Cate JM, Featherstone JDB. Mechanistic Aspects of the Interactions Between Fluoride and Dental Enamel. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991;2(3):283-96.

ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2) Pt 2:241-4.

Tezel H, Ergücü Z, Onal B. Effects of topical fluoride agents on artificial enamel lesion formation in vitro. *Quintessence Int.* 2002;33(5):347-52.

Torres CR, Rosa PC, Ferreira NS, Borges AB. Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on microhardness of enamel carious lesions. *Oper Dent.* 2012;37(4):363-9.

Tveit A, Klinge B, Tötdal B, Selving K. Long-term retention of TiF₄ and SnF₂ after topical application to dentin in dogs. *Eur J Oral Sci.* 1988;96(6):536-40.

Van Rijkom H, Ruben J, Vieira A, Huysmans MC, Truin GJ, Mulder J. Erosion-inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment in vitro. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(3):253-7.

Villanova JC, Oréface RL, Cunha AS. Pharmaceutical applications of polymers. *Polímeros.* 2010;20(1):51-64.

Wei S, Soboroff D, Wefel J. Effects of titanium tetrafluoride on human enamel. *J Dent Res.* 1976;55(3):426-31.

White A, Jones S, Barbour M, Churchley D, Gracia L, Rees G. Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: Evidence for a dose-response. *J Dent.* 2012;40(8):654-60.

Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions-a review. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(4):245-54.

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

Wiegand A, Schneider S, Sener B, Roos M, Attin T. Stability against brushing abrasion and the erosion-protective effect of different fluoride compounds. *Caries Res.* 2014;48(2):154-62.

Willershausen B, Schulz-Dobrick B. In vitro study on dental erosion provoked by various beverages using electron probe microanalysis. *Eur J M Res.* 2004;9(9):432-8.

Zaman MA, Martin GP, Rees GD. Bioadhesion and retention of non-aqueous delivery systems in a dental hard tissue model. *J Dent.* 2010;38(9):757-64.

Zaman MA, Martin GP, Rees GD. Mucoadhesion, hydration and rheological properties of non-aqueous delivery systems (NADS) for the oral cavity. *J Dent.* 2008;36(5):351-9.

Zero DT. Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. *BMC Oral Health.* 2006;6 Suppl 1(S9).

Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2 (Pt 2)):162-77.

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

Zero DT, Lussi A. Erosion--chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J.* 2005;55(4 Suppl 1):285-90.

Zero DT, Raubertas RF, Pedersen AM, Fu J, Hayes AL, Featherstone JD. Studies of fluoride retention by oral soft tissues after the application of home-use topical fluorides. *J Dent Res.* 1992;71(9):1546-52.

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028 / 9086
Fax (12) 3947-9010 / guedes@fosjc.unesp.br / tango@fosjc.unesp.br



São José dos Campos, 04 de dezembro de 2013

Ofício nº 12/2013-CEUA/UNESP-CSJC-ICT

Prezada Senhora

Esclarecemos que não há necessidade do projeto intitulado “Influência de diferentes concentrações de bioadesivos sobre o efeito protetor do flúor no desenvolvimento da erosão dental” de sua responsabilidade ser analisado por este Comitê, porque a pesquisa em tela não envolve a utilização de vertebrados e sim o uso de dentes bovinos como substrato comercialmente disponível, de acordo com a Lei nº 11.794 de 08/10/2008 – Lei “Arouca”.

Atenciosamente,


Profa. Adjunto CRISTIANE YUMI KOGA ITO
Vice-Coordenadora em exercício

Profa. Dra. ALESSANDRA BÜLHER BORGES
Depart. de Odontologia Restauradora
Do Instituto de Ciência e Tecnologia – Campus de
São José dos Campos - UNESP