



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

DANIELE MARA DA SILVA ÁVILA NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DE FLUORETOS
ASSOCIADOS AO POLÍMERO BIOADESIVO CARBOPOL
NO DESGASTE EROSIVO**

2018

DANIELE MARA DA SILVA ÁVILA NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DE FLUORETOS
ASSOCIADOS AO POLÍMERO BIOADESIVO CARBOPOL NO
DESGASTE EROSIVO**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de Dentística.

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges

Coorientador: Prof. Dr. Taís Scaramucci

São José dos Campos

2018

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2018]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Nogueira, Daniele Mara da Silva Ávila

Avaliação do efeito protetor de fluoretos associados ao polímero bioadesivo Carbopol no desgaste erosivo / Daniele Mara da Silva Ávila Nogueira. - São José dos Campos : [s.n.], 2018.
141 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2018.

Orientadora: Alessandra Bühler Borges

Coorientadora: Taís Scaramucci

1. Erosão dentária. 2. Abrasão dentária. 3. Polímeros. 4. Fluoreto de sódio. 5. Esmalte dentário. I. Borges, Alessandra Bühler, orient. II. Scaramucci, Taís, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Adjunto Alessandra Buhler Borges (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Adjunto Carlos Rocha Gomes Torres

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Adjunto Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Daniela Rios Honório

Universidade de São Paulo (USP)

Faculdade de Odontologia de Bauru

Campus de Bauru

Profa. Dra. Patricia Moreira de Freitas

Universidade de São Paulo (USP)

Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

São José dos Campos, 2 de julho de 2018.

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 Sila 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. Eu te amo pra sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela fé nos momentos difíceis e graças nos momentos de felicidade. Por me permitir sentir que tudo vai dar certo.

A minha orientadora, Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges, por minha formação acadêmica, desde minha graduação até esta grandiosa conquista. Agradeço incondicionalmente por todo conhecimento transmitido e pela excelência em seus trabalhos. Obrigada por me orientar em todos os sentidos, não só no desenvolvimento de nossos trabalhos ao longo desses cinco anos e meio, mas também por me fazer ultrapassar meus próprios limites. Você é um exemplo de vitória e de grandes conquistas.

A minha co-orientadora Profa. Dra. Taís Scaramucci, pela relevante ajuda no desenvolvimento do nosso trabalho desde o mestrado e por compartilhar seus conhecimentos. Nossa parceria engrandece cada vez nossas conquistas.

Ao Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres, por ser um professor tão completo, dedicado e presente nos momentos mais difíceis, sempre com uma ideia excelente para minimizar os problemas. Obrigada pela minha formação acadêmica e por nos fazer ver o quanto é bonita a nossa profissão.

Ao Prof. Dr. César Pucci que desde a graduação me incentivou a ingressar nesta vida de pesquisa, me permitindo realizar uma iniciação científica. Obrigada pela amizade construída e pela confiança.

Ao Prof. Dr. Sérgio Gonçalves por não medir esforços para ajudar o crescimento de seus alunos e nos mostrar o quanto a odontologia é linda. E principalmente por nos mostrar que a vida não se resume em apenas trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Bresciani por ser tão atencioso e sempre estar disponível para ajudar os seus alunos. você é um verdadeiro professor.

A Profa. Dra. Graziela Batista, pela convivência desde minha graduação, quando ficávamos “eternamente” naquele laboratório. Muito obrigada por toda ajuda e pela amizade.

A Dra Daphne Camara Barcellos, por sua habilidade fora do normal em resolver tudo tão rápido e com tanta eficiência. Obrigada por toda ajuda.

Às minhas amigas fantásticas, Ana Júlia, Rayssa, Lucélia e Laura, com toda certeza do mundo, as pessoas mais importantes que eu conheci nesses longos anos de Pós-graduação, sem as quais não teria chegado tão longe. Rayssa obrigada por toda ajuda, posso dizer que você também foi minha orientadora nesta caminhada. Sempre vou ser muito grata por toda ajuda e principalmente por nossa amizade ter ultrapassado os muros da Unesp. Você é muito importante nesta minha conquista. Obrigada Lucélia pelo seu dom da palavra e amizade, sua presença em minha vida é, sem dúvidas, um presente de Deus. Muito obrigada por suas palavras que me confortavam imensamente naqueles meses de sanduíche. Obrigada pelas conversas, ajudas e conselhos, vocês são fantásticas.

Aos amigos de Pós-graduação, Mariane, Ana Luíza, Fabrícia, Ayla, Maurício, Marina, Stella, Erika, Tania e Fernanda, por serem os melhores voluntários que um pesquisador poderia ter. Sem a ajuda e boa vontade de vocês este trabalho nem existiria. Muito obrigada e que Deus abençoe o caminho de cada um.

A Profa. Dra. Adriana Poletto por me receber com tanta atenção e carinho e principalmente pelas grandes oportunidades oferecidas. Obrigada pela confiança em meu trabalho e por me permitir ministrar meu primeiro curso. Agradeço ao Programa Escala por me conceder a oportunidade de

conhecer a UNCUYO foi uma experiência incrível e de grande valia para minha vida profissional.

Ao Prof. Dr. Stephen Gross, que me recebeu tão bem na fase mais maluca da minha vida. Jamais imaginei que um dia iria morar nos Estados Unidos, mesmo que por quatro meses, e pra estudar química. Nunca senti tanto medo do desconhecido, mas sua ajuda tornou o desconhecido em mais uma grande vitória. Obrigada pela parceria.

A Faculdade de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, minha amada UNESP. Devo toda minha formação acadêmica à esta Instituição.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, em especial aos docentes da área de Dentística, pelos conhecimentos compartilhados.

A secretária do departamento de Odontologia Restauradora Lílíane, às técnicas Fernanda e Josiana pela presteza e dedicação ao trabalho e pelos auxílios quando mais precisei.

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.

A CAPES pela concessão de bolsa nos primeiros dois anos do doutorado e pela bolsa PDSE (processo 88881.132884/2016-01) para realização do doutorado sanduíche nos Estados Unidos. E à Fapesp pela concessão da bolsa de doutorado (processo 2015/19.585-4) no meu último ano deste doutorado. Todas fundamentais para o desenvolvimento do meu trabalho e crescimento profissional.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o
que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que
era antes”.*

(Martin Luther King)

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	14
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Erosão Dentária.....	19
2.1.1 Definição e etiologia	19
2.1.2 Prevenção e controle do desgaste erosivo	25
2.2 Ação da película adquirida.....	26
2.3 Fluoretos.....	30
2.4 Polímeros bioadesivos	34
2.4.1 Polímero Carbopol	39
2.5 Métodos para quantificação de lesão erosiva	47
3 PROPOSIÇÃO	50
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1 Comitê de ética.....	51
4.2 Preparo dos espécimes	52
4.3 Avaliação da microdureza inicial e seleção das amostras	57
4.4 Soluções experimentais	58

4.5 Etapa 1 - Estudo <i>in vitro</i>: Influência de soluções contendo fluoreto de sódio e cloreto de estanho associados ao polímero Carbopol na erosão do esmalte	61
4.5.1 Delineamento experimental.....	61
4.5.2 Ensaio de estabilização do pH (<i>pH stat</i>)	62
4.5.3 Divisão dos grupos.....	64
4.5.4 Formação da película adquirida	65
4.5.5 Desafio erosivo e tratamento com as soluções	66
4.5.6 Ensaio de microdureza.....	67
4.5.7 Definição da concentração de flúor no esmalte	69
4.5.8. Análise estatística	70
4.6 Etapa 2 - Estudo <i>in situ</i>: Avaliação do efeito protetor do flúor associado ao polímero Carbopol no desenvolvimento do desgaste erosivo.....	71
4.6.1 Delineamento experimental.....	71
4.6.2 Divisão dos grupos.....	72
4.6.3 Cálculo do tamanho da amostra	73
4.6.4 População do estudo.....	74
4.6.5 Ensaio de perfilometria.....	77
4.6.6 Esterilização dos espécimes	80
4.6.7 Preparo do dispositivo intra-oral.....	81
4.6.8 Procedimentos experimentais	83
4.6.9 Análise estatística	86
5 RESULTADO	87

5.1 Resultados da Etapa 1.....	88
5.1.1 Ensaio de estabilização do pH (<i>pH stat</i>)	88
5.1.2 Análise de microdureza	90
5.1.3 Análise da concentração de flúor	93
5.2 Resultados da Etapa 2.....	94
5.2.1 Análise de perfilometria.....	95
6 DISCUSSÃO	98
6.1 Estudo <i>in vitro</i>	98
6.2 Estudo <i>in situ</i>.....	105
7 CONCLUSÃO	109
REFERÊNCIAS	110
APÊNDICES	125
ANEXOS	132

Nogueira DMSA. Avaliação do efeito protetor de fluoretos associados ao polímero bioadesivo Carbopol no desgaste erosivo [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2018.

RESUMO

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, assim hipotetizou-se que a incorporação ao polímero Carbopol 980 poderia potencializar o efeito protetor de soluções fluoretadas no controle do desgaste erosivo do esmalte com a formação de um filme superficial protetor. A proposta foi dividida em duas etapas. A primeira etapa consistiu em um estudo *in vitro* no qual foi testada a associação do polímero Carbopol ao Fluoreto de sódio (NaF) e Fluoreto de Sódio mais Cloreto de Estanho (NaF + Sn) quanto ao efeito remineralizante e protetor contra a erosão inicial, na presença da película adquirida. O teste de estabilidade de pH (pH *stat*) foi realizado, tratando cristais de hidroxiapatita com as soluções descritas, a fim de testar o potencial protetor dos componentes isolados ou associados, quanto à dissolução da hidroxiapatita, prevendo assim o potencial protetor das soluções testadas. Em seguida, espécimes cilíndricos em esmalte bovino polido (3 mm diâmetro) foram desmineralizados com ácido cítrico a 0,3% (pH 2,6) por 2 minutos (n=15). Os espécimes foram imersos em saliva humana por 2 horas para formação da película adquirida e foi então realizado o tratamento com as soluções experimentais por 2 minutos [NaF (500 ppm F), NaF + Carbopol (0,1%), NaF + Sn (500 ppm F + 800 ppm Sn), NaF + Sn + Carbopol], água deionizada (controle negativo) e solução comercial (Elmex – controle positivo). Uma nova imersão em saliva humana (2 h) foi realizada para remineralização, seguida por novo desafio ácido. A microdureza Knoop foi medida em diferentes tempos: inicial, após o primeiro desafio ácido, após a imersão nas soluções de tratamento (potencial de remineralização) e após o segundo desafio ácido (potencial protetor). Foi realizada uma nova imersão nas soluções-teste para mensuração do fluoreto solúvel em álcali da superfície do esmalte. Foram utilizados os testes ANOVA e Tukey (5%). Observou-se que a dissolução da hidroxiapatita foi menor nos grupos tratados com NaF + Sn + Carbopol se comparado aos demais grupos, resultado que corrobora com o maior potencial remineralizante e protetor, medidos por microdureza. A mensuração de flúor adsorvido na superfície também foi maior para o grupo com associação NaF + Sn + Carbopol comparado aos demais grupos. A segunda etapa foi um estudo *in situ*, realizado com as soluções experimentais que apresentaram o maior potencial protetor no estudo *in vitro*. Para tal, os espécimes em esmalte bovino

polido foram divididos em três grupos (n=60): solução NaF + Sn (controle positivo), solução NaF + Sn + Carbopol, e água deionizada (controle negativo). Foi testado um modelo *in situ* em 3 fases. Quinze voluntários participaram do estudo. Em cada fase, os voluntários usaram um dispositivo palatal contendo 4 espécimes cada, sendo que dois foram submetidos a um ciclo de erosão e remineralização por 5 dias. Este ciclo consistiu na utilização dos dispositivos palatais por 2 horas para formação da película, seguido por imersão extra oral em ácido cítrico 1% (pH 2,3 - 5 minutos -4x/dia), com intervalos de 1 hora de exposição à saliva *in situ* entre os desafios, e tratamento com as soluções 2x/dia, por 1 minuto. Os outros dois espécimes foram submetidos à erosão/abrasão/remineralização, sendo a abrasão realizada 2x/dia, por 15 segundos com a escova elétrica ativa sobre os espécimes, antes dos tratamentos diários com as soluções e a erosão/remineralização conforme descrito. Ao final do experimento, a perda superficial (em μm) dos espécimes foi avaliada por perfilometria e os dados foram submetidos aos testes ANOVA dois fatores e Tukey (5%). Houve diferença entre os desafios (erosão e erosão+abrasão), assim como os tratamentos com soluções fluoretadas foram capazes de proteger o esmalte contra o desgaste erosivo, significativamente diferentes do controle negativo. Pode-se concluir que tanto para o estudo *in vitro* quanto para o estudo *in situ* a associação do NaF ao Sn e também estes ao Carbopol apresentaram resultados promissores diminuindo o desenvolvimento do desgaste erosivo.

Palavras-chave: Erosão dentária. Abrasão dentária. Polímeros. Fluoreto de sódio. Esmalte dentário. Perfilometria.

Nogueira DMSA. *Evaluation of the protective effect of fluoride associated to bioadhesive polymer Carbopol in the erosive wear [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2018.*

ABSTRACT

*The protective effect of fluoride against erosion has been related mainly to the formation of calcium fluoride deposits and the adsorption of fluoride ions on the dental surface, so it was hypothesized that the incorporation to the Carbopol 980 polymer could potentiate the protective effect of fluoride solutions in the control of the enamel erosive wear with the formation of a protective film. The proposal was divided in two stages. The first stage consisted of an *in vitro* study in which the association of Carbopol polymer to sodium fluoride (NaF) and sodium fluoride with tin chloride (NaF + Sn) was tested in the presence of acquired pellicle. The pH stat test was used to test the protective potential of these components isolated or associated, in relation to the dissolution of hydroxyapatite, thus predicting the protective potential of the solutions tested. The remineralizing and protective effect against initial erosion measured by microhardness was investigated. Cylindrical polished bovine enamel specimens (3 mm diameter) was prepared and demineralized with 0.3% citric acid (pH 2.6) for 2 minutes (n=15). The specimens were immersed in human saliva for 2 hours to allow acquired pellicle formation and then, treatment with experimental solutions for 2 minutes were performed [NaF (500 ppm F), NaF + Carbopol (0,1%), NaF + Sn (500 ppm F + 800 ppm Sn), NaF + Sn + Carbopol], deionized water (negative control) and commercial mouthrinse (Elmex – positive control). A new immersion in human saliva (2 h) for remineralization and then new acid challenge were performed. The Knoop microhardness was measured at different times: baseline, after the first acid challenge, after treatments (remineralization potential), and after second acid challenge (protective potential). Additionally, a new immersion in test solutions was conducted for the measurement of alkali-soluble fluoride on enamel surface. ANOVA and Tukey tests were applied (5%). It was observed that the dissolution of hydroxyapatite was lower in the groups treated with NaF + Sn + Carbopol compared to the other groups. This result was also observed with the remineralizing and protective potentials, measured by microhardness. The measurement of alkali-soluble fluoride on enamel surface was also higher to the NaF + Sn + Carbopol association group compared to the other groups. The second stage was an *in situ* study carried out with the experimental solutions that present the greatest protective potential in the previous *in vitro* study. For this, polished enamel specimens were divided into*

three groups ($n = 60$): NaF + Sn (positive control), NaF + Sn + Carbopol, and deionized water (negative control). An *in situ* model with three stages was tested. Fifteen volunteers participated in the study. In each phase, volunteers used a palatal appliance containing 4 specimens each, in which two were submitted to an erosion and remineralization cycle for 5 days. This cycle consisted of using the appliance for 2 hours for pellicle formation, followed by extra oral immersion in 1% citric acid (pH 2.3 - 5 minutes - 4x/day) with intervals of 1 hour of *in situ* saliva exposure between challenges and treatment with the solutions 2x/day for 1 minute. The other two specimens were subjected to erosion/abrasion/remineralization cycle, in which abrasion was performed 2x/day - 15 seconds, with active electric toothbrush, before the daily treatment with the solutions, and erosion/remineralization as previously described. At the end of the experiment, enamel surface loss (μm) was evaluated by profilometry and the data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey tests (5%). There were differences between the challenges (erosion and erosion + abrasion), as well as treatments with fluoride solutions were able to protect the enamel against erosive wear, significantly different from the negative control. It can be concluded that for both the *in vitro* and the *in situ* study, the association of NaF to Sn, and these to Carbopol, presented promising results reducing the development of erosive wear.

Keywords: Tooth erosion. Tooth abrasion. Polymers. Sodium fluoride. Dental enamel. Profilometry.

1 INTRODUÇÃO

A erosão dental é caracterizada por perda irreversível de estruturas dentais, decorrentes da dissolução química de mineral por ácidos, sem envolvimento bacteriano (Ganss, Lussi, 2014). Embora tenha sido reconhecida como um problema por décadas, ela não foi considerada uma questão importante de tratamento bucal até recentemente. Uma revisão de inúmeras publicações de saúde pública indica que a erosão dentária não é apenas prevalente, mas também crescente em muitos países desenvolvidos (Lussi, Carvalho, 2014). As lesões podem ser encontradas em todas as superfícies dentárias (Jaeggi, Lussi, 2014) e os ácidos responsáveis pela erosão podem ser de origem extrínseca (presentes principalmente nos alimentos e bebidas ácidas) ou intrínseca (representado pelo ácido clorídrico presente no suco gástrico) (Lussi, Jaeggi, 2006; Lussi, Carvalho, 2014; Moazzez, Bartlett, 2014).

Existem alguns fatores biológicos que podem modular a progressão do desgaste erosivo, com grande destaque para a saliva (Hara et al., 2006; Hara, Zero, 2014) e sua função em formar a película adquirida, que atua como uma barreira protetora para a superfície dental frente aos desafios ácidos (Lendenmann et al., 2000; Buzalaf et al., 2012; Cassiano et al., 2018). No entanto, seu efeito protetor é limitado, pois está relacionado à frequência de desafios erosivos aos quais os pacientes de alto risco para erosão estão submetidos (Schlueter, Tveit, 2014).

Para prevenir o aparecimento de novas lesões e controlar a progressão das lesões já existentes, algumas medidas preventivas como redução da frequência de exposição aos ácidos devem ser tomadas (Magalhaes et al., 2009). Concomitantemente, podem ser implementadas estratégias para aumentar a resistência dentária aos ácidos erosivos (Ganss, Lussi, 2014), como a aplicação tópica de produtos fluoretados (Schlueter et al., 2007; Ganss et al., 2011; Lussi et al., 2011).

Nesse contexto, a aplicação frequente de produtos fluoretados visando a redução da solubilidade das superfícies dentais tem sido uma das manobras mais comumente preconizadas (Magalhaes et al., 2009; Ganss et al., 2012). Entretanto, existe uma grande variação na eficácia desses produtos, o que entre outros fatores, parece estar relacionada com o tipo de composto de flúor testado (Ganss et al., 2008; Rios et al., 2008; Wiegand et al., 2009).

Compostos monovalentes, como o fluoreto de sódio (NaF) apresentam efeito protetor contra a erosão dentária demonstrado há vários anos, sendo este efeito atribuído principalmente à formação de compostos semelhantes ao CaF_2 na superfície do esmalte, que atuam como uma barreira ao contato direto do ácido com a superfície dental (Graubart et al., 1972; Petzold, 2001; Scaramucci et al., 2013; Lussi, Hellwig, 2014; Faller, Noble, 2018). Formulações neutras contendo estes compostos fluoretados, como dentifrícios e enxaguatórios, possuem, no entanto, uma limitada eficácia na prevenção do desgaste erosivo (Magalhaes et al., 2007; Macdonald et al., 2010; Ganss et al., 2011; Scaramucci et al., 2013). Já as formulações ácidas podem promover um benefício maior (Huysmans et al., 2014).

Compostos fluoretados polivalentes de cátions metálicos, como o fluoreto de estanho (SnF_2), vêm demonstrando um potencial protetor superior contra o desgaste erosivo (Huysmans et al., 2014). Além da formação dos compostos semelhantes ao CaF_2 , o estanho pode interagir com a superfície dental formando uma rica camada de Sn, muito mais ácido resistente (Ganss et al., 2010; Scaramucci et al., 2015; Faller, Noble, 2018; Sakae et al., 2018).

Contudo, há de se considerar que mesmo os tratamentos mais eficazes à base de fluoretos devem ser aplicados frequentemente, pois sua proteção apresenta curta duração quando considerado o ambiente erosivo no qual eles são expostos. Nesse sentido, há uma preferência por produtos de uso caseiro, como enxaguatórios bucais, pois são uma ótima opção para complementação da higiene

oral de uso diário, de fácil utilização e acesso, o que permite uma aplicação mais frequente (Huysmans et al., 2014; Schlueter, Tveit, 2014). Atualmente no mercado existem poucas formulações de enxaguatório bucal para prevenção do desgaste erosivo, à base de fluoretos, porém não comercializados no Brasil, o que dificulta e limita muito sua obtenção pelos pacientes.

Como alternativa de tratamento, alguns polímeros orgânicos e inorgânicos formadores de filme também têm sido avaliados em relação à sua capacidade de reduzir a erosão dental. Diversos polímeros já foram testados como ingredientes ativos de soluções de bochecho ou de dentifrícios, (Gracia et al., 2010; Manarelli et al., 2011; White et al., 2011; Ganss et al., 2012) e também, como aditivos em soluções e bebidas ácidas (Barbour et al., 2005; Hooper et al., 2007; Beyer et al., 2010; Hemingway et al., 2010; Scaramucci et al., 2011). Adicionalmente, estudos anteriores demonstraram que muitos desses polímeros podem interagir positivamente com compostos de flúor, aumentando assim seu efeito protetor (Gracia et al., 2010; Moretto et al., 2010; White et al., 2011). Estes polímeros apresentam a propriedade de bioadesão, sendo capazes de se ligar a substratos biológicos, e vêm sendo 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 tem sido investigado, com resultados promissores com relação à retenção destes nas superfícies duras dentárias (Zaman et al., 2010). 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 as trocas iônicas entre a solução ácida e o substrato dental (Barbour et al., 2005; Beyer et al., 2012).

Neste sentido, em um estudo *in vitro* de nosso grupo de pesquisa, foram avaliadas as propriedades anti-erosivas de soluções fluoretadas associadas a

polímeros bioadesivos (Ávila et al., 2017). Por meio da análise de perfilometria, pôde-se concluir que a associação do polímero Carbopol 980 à solução de fluoreto de sódio resultou em menores valores de perda de esmalte, comparado ao fluoreto sozinho. Sugere-se que o efeito protetor observado neste estudo estaria relacionado à uma ação combinada de ambos os agentes, ou seja, do carbopol se ligando nos locais do esmalte onde o flúor não se ligou.

Tendo em vista os resultados promissores obtidos com este agente e de sua combinação com fluoreto, é oportuno associá-lo a outros compostos fluoretados e testá-los em uma condição clínica mais relevante, com a presença de saliva e da película adquirida. Isso porque algumas proteínas salivares também possuem afinidade com as superfícies dentais, podendo competir com os agentes anti-erosivos por sítios de ligação (Barbour et al., 2005; Scaramucci et al., 2012). Ainda sob condições clínicas, tecidos duros dentais são expostos não só a agentes erosivos, mas também a agentes abrasivos provenientes da escovação. Sendo assim, os precipitados encontrados após a aplicação de agentes fluoretados, bem como a camada protetora associada ao uso de polímeros, devem resistir às forças abrasivas para exibir um efeito de proteção de longa duração contra os desafios ácidos (Wiegand et al., 2010; Scaramucci et al., 2015).

Desta forma, o desenvolvimento de um estudo *in situ* é de grande relevância para se certificar do benefício observado pela associação testada previamente no estudo *in vitro*. Em dependência dos resultados desta pesquisa, teremos novas perspectivas para formulação de produtos capazes de prevenir o desenvolvimento da erosão associada à abrasão na superfície do esmalte.

2 REVISÃO DE 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, relação da película adquirida com o desenvolvimento da erosão dental e quanto aos recursos para mensuração de lesões erosivas.

2.1 Erosão Dentária

2.1.1 Definição e etiologia

A erosão dentária é uma doença multifatorial definida como a perda de tecido dental por um processo químico em que não há presença de microorganismos (Zero, 1996; Lussi, Carvalho, 2014). Ganss (2006) descreveu a erosão dental 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 do processo de erosão se apresentam como uma perda inicial de brilho na superfície dos dentes, seguida de planificação das estruturas convexas. Com a contínua exposição aos ácidos, concavidades se formam nas superfícies lisas e escavações são observadas nas faces incisais e oclusais (ten Cate, Imfeld, 1996; Ganss, Lussi, 2014). As restaurações parecem estar elevadas em relação aos tecidos dentários adjacentes e a coloração dos

dentes se torna amarelada (Ganss, Lussi, 2014). Em estágios avançados e severos, o desgaste erosivo pode causar alterações na morfologia dentária, com prejuízo estético e funcional, além de comprometimento da dimensão vertical (Schlueter et al., 2012). Adicionalmente, quando resulta em exposição dentinária, pode resultar em sintomatologia dolorosa (Lussi et al., 2011). Fatores biológicos, químicos e comportamentais estão intimamente relacionados com a perda de superfície dental pelo processo erosivo, porém tais fatores podem, por outro lado, oferecer proteção à superfície dental (Lussi, Carvalho, 2014).

O processo químico de desmineralização da superfície dental 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, 2006), ou pela propriedade quelante da solução, ligação de ânions com o complexo de cálcio (Featherstone, Lussi, 2006; Lussi, Carvalho, 2014). Para a erosão dental, os ácidos fracos são de maior importância, pois seus 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 de cada molécula. O próprio íon hidrogênio pode atacar cristais minerais do dente e dissolvê-los, 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 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 de hidroxiapatita. 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 sucos de frutas cítricas e refrigerantes, podem ocasionar erosão dental. Porém o potencial erosivo de uma bebida não depende apenas de seu pH, mas também relaciona-se com seu conteúdo mineral, da sua capacidade tampão e sua propriedade quelante (Lussi et al., 2004). A quantidade de fluoreto, 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 são supersaturadas em relação ao substrato dental, sendo assim, como descrito anteriormente, 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 fluoreto e a capacidade de tamponamento de 18 bebidas com os seus efeitos erosivos e da 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 3x4 mm, foram expostos a 1,5 litros de cada bebida por 7 dias ou 24 horas 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 o 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 baixo efeito tampão e alta capacidade de produzir 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 humidificada 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 pôde 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 seu valor de pH. 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 determinante 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 suficientes 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 em goles 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 redução do fluxo salivar neste período.

Lussi e Carvalho (2014) ressaltam 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 do 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 contrapartida, há uma parcela da população que procura por um estilo de vida saudável, por meio 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 comprovada que uma boa higiene oral é imprescindível para a prevenção de doença periodontal e de cárie dental, a escovação freqüente com produtos abrasivos após consumo de substâncias ácidas pode aumentar o desgaste da superfície dental (Shellis, Addy, 2014). A desmineralização parcial 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 erosão dental (Lussi, Hellwig, 2001; Lussi, Carvalho, 2014). Doenças como refluxo gastroesofágico, alcoolismo crônico e distúrbios psicossomáticos (vômitos, como resultado da anorexia ou bulimia) também estão relacionados à maior predisposição à erosão dental (Zero, 1996; Moazzez, Bartlett, 2014).

2.1.2 Prevenção e controle do desgaste erosivo

Um pré-requisito em medidas preventivas para erosão dental é o estabelecimento de um correto diagnóstico e avaliação dos diferentes fatores etiológicos da doença (Lussi, Hellwig, 2006). 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 a adoção de 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 estimular a remineralização, promover proteção química e mecânica, minimizar forças abrasivas e diminuir o potencial erosivo das substâncias ácidas (Gandara et al., 1999; Ganss, Lussi, 2014). Adicionalmente deve ser feito um aconselhamento dietético por meio da análise do histórico da dieta, possibilitando ao dentista determinar seu potencial erosivo (Lussi, Hellwig, 2006). Com base nessas análises, um programa preventivo individualmente adaptado pode ser sugerido ao paciente (Lussi, Hellwig, 2006).

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, 2006). 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., 2006). Porém tratamentos restauradores não previnem a lesão erosiva, havendo a necessidade de medidas que inibam ou estabilizem o problema 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 polímeros (Gracia et al., 2010; Zaman et al., 2010; Buzalaf et al., 2014; Wiegand et al., 2014).

2.2 Ação da película adquirida

A saliva é o fator biológico mais relevante para a prevenção frente ao desgaste erosivo (Hara, Zero, 2014), começando a atuar mesmo antes do ataque ácido, com um aumento da taxa de fluxo salivar como resposta aos estímulos provocados pelos ácidos. Isso cria um cenário mais favorável, melhorando o sistema de proteção da saliva e efetivamente diluindo e eliminando os ácidos que entram em contato com superfícies dentárias durante o desafio erosivo. A saliva desempenha um papel importante na formação da película adquirida, uma membrana que impede o contato do ácido com as superfícies dos dentes. Devido à sua composição mineral, a saliva pode prevenir a desmineralização bem como promover a remineralização. Finalmente, a saliva também pode representar a expressão biológica do risco de um indivíduo em desenvolver lesões erosivas. Portanto, alguns dos componentes da saliva, bem como a película adquirida, podem servir como potenciais biomarcadores para erosão dentária (Hara, Zero, 2014).

Todas as superfícies dentárias expostas à cavidade oral são naturalmente revestidas pela película adquirida, esta qual é composta por componentes macromoleculares adsorvidos da saliva, fluido crevicular gengival, sangue, bactérias, mucosa e dieta. A película (formada *in situ* / *in vivo*) funciona, basicamente como uma rede semipermeável de macromoléculas salivares adsorvidas e fornece proteção parcial contra os desafios ácidos, no entanto, não pode completamente prevenir a desmineralização da superfície do dente e conseqüentemente reduz a taxa de dissolução da hidroxiapatita (Hannig, Hannig, 2014). A ligação de cálcio e fosfato a peptídeos e proteínas adsorvidas na camada basal da película, são de importante relevância para a redução da erosão (Hannig, Hannig, 2014).

Vários estudos *in situ* e *in vivo* indicam que o a camada de película adquirida tem o potencial de proteger a superfície do esmalte contra a desmineralização (Hannig, Balz, 2001; Hannig et al., 2005; Wiegand et al., 2008; Hannig, Hannig, 2014). Todas estas investigações revelam que a película formada naturalmente fornece um efeito inibitório evidente para alterações relacionadas com o ácido (por exemplo, perda mineral, diminuição da microdureza e aumento da rugosidade superficial) na superfície do esmalte durante a erosão. No entanto, o efeito protetor da película só será mantido enquanto ela estiver presente sobre as estruturas dentais. A escovação com dentifrícios abrasivos pode ser um fator de remoção da película, contudo, ela volta a se formar instantaneamente sobre o esmalte escovado (Hannig, Balz, 2001). A sua eficácia para reduzir a desmineralização e para proteger a superfície do esmalte contra o desgaste erosivo difere, dependendo dos trabalhos realizados e, portanto, é difícil avaliar o nível exato de proteção da superfície do esmalte pela película fisiologicamente formada (Hannig, Hannig, 2014).

A película é formada pela grande afinidade existente entre as proteínas, peptídeos, lipídeos e outras macromoléculas presentes na saliva, adsorvidas com

as superfícies orais e também pelas interações intermoleculares existentes entre essas proteínas (Hara et al., 2006; Buzalaf et al., 2012; Hara, Zero, 2014). Os possíveis mecanismos de formação da película adquirida envolvem interações eletrostáticas, formação de agregados hidrofóbicos e forças de Van Der Waals (Imai, Tamaki, 1999).

A formação da película adquirida sobre o esmalte é um processo dinâmico que começa poucos segundos após sua remoção (Imai, Tamaki, 1999), seja por escovação, dissolução química ou profilaxia (Hara et al., 2006) e ocorre em duas etapas. Na primeira etapa ocorre adsorção inicial de proteínas precursoras da película, que possuem alta afinidade pela hidroxiapatita e se ligam a ela por meio de interações eletrostáticas com as regiões hidrófobas do dente, deixando as cadeias hidrófobas das proteínas expostas à superfície (Siqueira et al., 2012). Estudos indicam que nessa primeira etapa as proteínas que se adsorvem à hidroxiapatita são as PRPs (proteínas ricas em prolina), estaterinas, histatinas, mucinas, amilase, cistatinas, lisozimas e lactoferrinas (Siqueira et al., 2012). As histatinas possuem um comprovado efeito contra a desmineralização do esmalte *in vitro* (Siqueira et al., 2012). Nessa primeira etapa a espessura da película atinge 10 a 20 nm de espessura e permanece estável por aproximadamente 30 minutos (Siqueira et al., 2012).

A segunda etapa pode complementar a primeira, ou ocorrer independentemente, e consiste em agregados proteicos que podem adsorver na superfície dental ou interagir com a camada proteica previamente formada por meio de interações proteína-proteína (Hara et al., 2006; Siqueira et al., 2012). Essa segunda etapa contribui para o rápido aumento em espessura da película e caracteriza o seu estágio de maturação da película, atingindo seu pico entre 30 e 60 minutos (Siqueira et al., 2012). Ao fim das duas etapas de formação, sugere-se que ocorra um equilíbrio na adsorção de proteínas em um intervalo de aproximadamente 2 horas (Hara et al., 2006).

Alguns aspectos morfológicos podem interferir na ação da saliva e no desenvolvimento da erosão. Diferentes locais da cavidade oral podem tornar os dentes mais suscetíveis ao desenvolvimento da erosão, não só pela proteção salivar diferente, mas também por sua exposição a forças mecânicas resultantes do contato com os tecidos moles circundantes e a língua (Hara, Zero, 2014). A espessura da película adquirida sofre variação sobre os dentes ao longo dos arcos dentais e pode ser responsável pela distribuição das lesões erosivas (Amaechi, Higham, 2001). Há uma relação entre a espessura da película e o aparecimento das lesões, onde a espessura é maior o aparecimento das lesões é conseqüentemente menor (Amaechi, Higham, 2001). Lussi et al. (2004) demonstraram que a região lingual anterior e posterior do arco inferior, com a maior espessura de película formada *in situ* se mostrou menos suscetível para o aparecimento da lesão, após exposição *in vitro* em suco de laranja por 2 horas, do que na região lingual anterior superior, na qual a película formada *in situ* era mais fina.

A desmineralização da superfície do dente só pode ocorrer após a difusão do ácido (íons H^+) através da película ou depois da dissolução (parcial) ou remoção da película adquirida induzida pela interação com o ácido. A estrutura da película não impede o contato direto entre o agente erosivo e a superfície do dente, no entanto, pode reduzir e retardar a interação imediata entre os ácidos e a superfície do dente. Além disso, as proteínas adsorvidas na camada de película podem atuar como tampão ao ligar íons H^+ ou ácidos que atacam a superfície do dente (Hannig, Joiner, 2006; Siqueira et al., 2012).

Embora a proteção da saliva seja importante (antes, durante e após a exposição ao ácido), pode não ser suficiente para evitar a erosão dentária. Estes fatores de proteção biológica acima mencionados são melhor entendidos se considerados como resposta fisiológica do hospedeiro a episódios ocasionais ou leves de desafio ácido na cavidade oral. Não irá ocorrer desgaste erosivo, a menos

que o desafio ácido (força e/ou frequência) exceda um determinado limiar ou até mesmo se a resposta do hospedeiro não for adequada para reduzir o desafio erosivo. Conforme enfatizado por Meurman et al. (1994), se o desafio erosivo for suficientemente forte, mesmo o fluxo salivar normal e a função não podem proteger os dentes. Como consequência, a erosão dentária pode ser dramaticamente reforçada por desafios altamente erosivos e/ou por disfunção salivar.

2.3 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). 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; Magalhaes et al., 2009). Estudos *in vivo* e *in situ*, indicam que altas concentrações de fluoreto 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, 1100 e 5000 ppm F e 0 ppm 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, pH 2,6) durante 90 segundos, quatro vezes ao dia durante sete dias.

Imediatamente após o primeiro e último desafio erosivo, as amostras foram expostas, por 15 segundos, 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 freqüente de uso tópico. 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 dentifrício 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 o efeito protetor contra erosão ou erosão associada à abrasão. Porém os autores ressaltam que fatores como diluição do dentifrício e o curto tempo de utilização atuariam de forma a não favorecer o depósito de uma camada relevante de fluoreto de cálcio sobre a superfície dental. 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 dentifrício contendo 5000 ppm de flúor não promoveu maior proteção comparado à concentração convencional de 1100 ppm.

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 íon. 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), fluoreto de amina (AmF) e tetrafluoreto de titânio (TiF_4), os quais vêm demonstrando uma proteção superior contra o desgaste erosivo, com maior evidência disponível para as formulações contendo combinação de flúor e estanho (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, 2009; Wiegand et al., 2008; Huysmans et al., 2014).

Estudos mostram que o estanho (Sn^{2+}) possui a capacidade de substituir o cálcio (Ca^{2+}) da hidroxiapatita. O fluoreto de estanho em valores de pH acima de 4 pode sofrer oxidação e reações de hidrólise, precipitando compostos inativos como fluorofosfato estanhoso, fluoreto de cálcio estanhoso e hidroxifosfato estanhoso (Babcock et al., 1978). Acredita-se que estes compostos sejam mais ácido-resistentes do que o fluoreto de cálcio, formando uma camada amorfa que protege a superfície do dente (Schlueter et al., 2009). O estanho também pode ser incorporado à superfície de esmalte por meio do processo de desmineralização-

remineralização, alterando a composição da superfície e assim, aumentando a resistência aos desafios erosivos (Ganss et al., 2010).

Hove et al. (2006) estudaram a viabilidade da utilização de SnF₂ (pH 2,6), TiF₄ (pH 1,3) e NaF (pH 8,0) em proteger a superfície de esmalte contra lesões de erosão por ácido cítrico. Após a exposição ao ciclo erosivo e tratamento com TiF₄, SnF₂ e NaF observou-se uma redução de 88%, 50% e 25% de redução nas profundidades média de erosão em comparação ao grupo controle. Wiegand et al. (2009) compararam o efeito dos fluoretos de sódio, de amina e de estanho em diferentes pH, sobre a erosão do esmalte em uma ciclagem de 3 dias *in vitro*. A erosão foi simulada com ácido clorídrico (pH 2,6) e utilizou-se saliva humana na ciclagem. Ao final dos três dias de ciclo, o desgaste erosivo foi analisado por perfilometria. Foi observada uma redução na perda de esmalte pelo desgaste erosivo apenas para os grupos tratados com solução de SnF₂ e solução de AmF, sendo mais eficazes que as soluções de NaF. Schlueter et al. (2009) mostraram que o estanho não precisa estar presente em grandes quantidades para atingir um efeito anti-erosivo. A combinação de 800 ppm de Sn e 500 ppm de flúor parece estar adequada à eficácia e à aceitação do produto. Pini et al. (2017) investigaram *in situ* o efeito de agentes antierosivos no esmalte em condições normais de salivacão e de hipossalivacão. Quatro dentifrícios foram utilizados, placebo (0 ppm F), fluoreto de sódio (NaF, 1.450 ppm), estanho / fluoreto de sódio (SnF / NaF, 1.450 ppm F-, 1.090 ppm Sn +) e fluoreto de sódio, cloreto de estanho e quitosana (NaF / Sn / Ch, 1.450 ppm F-, 3.500 ppm Sn +, 0,5%). Concluíram que o fluxo salivar pode influenciar a eficácia dos cremes dentais antierosivos, no entanto, as preparações com estanho mostraram, mesmo sob condições de baixo fluxo salivar, a mais alta eficácia na prevenção da erosão do esmalte.

Em um experimento *in vitro*, Sakae et al. (2018) avaliaram a influência da viscosidade e frequência de aplicação de soluções contendo flúor (NaF) e flúor mais cloreto estanhoso (Elmex® erosion) na prevenção da erosão do esmalte. A

frequência de aplicação foi de uma vez ao dia e de duas vezes ao dia, e a simulação de erosão foi feita com ácido cítrico a 0,3%. Pode-se concluir que o aumento da viscosidade das soluções reduziu a perda de esmalte por erosão medido por perfilometria, no entanto, esse efeito foi pequeno e só foi observado quando as soluções foram aplicadas uma vez ao dia. E para os grupos tratados com Elmex, a perda foi menor do que nos grupos tratados com NaF. Para Faller e Noble (2018), embora todos os fluoretos sejam capazes de ajudar a fortalecer os dentes contra os ácidos cariogênicos, a prevenção contra os ácidos erosivos requer um nível mais alto de proteção. O uso diário de um dentifrício SnF₂ estabilizado fornece o meio mais eficaz, dentre os dentifrícios, de proteger os dentes contra o risco crescente de erosão dentária e desgaste erosivo dos dentes.

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 à prevenção ou controle de lesões de erosão, assim como a utilização de uma concentração definida sobre a quantidade de flúor e viscosidade padrão da solução fluoretada.

2.4 Polímeros 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, de forma a impedir ou reduzir a desmineralização da superfície dental. Esta camada impediria a interação de íons hidrogênio com a superfície dental. Segundo Zaman et al. (2008) as propriedades bioadesivas como veículos de entrega orais são um importante fator que contribui para determinar a substantividade *in vivo* da formulação empregada.

Barbour et al. (2005) testaram alguns ingredientes alimentares comuns e aditivos para o seu efeito sobre a dissolução da hidroxiapatita em uma solução representativa de ácido cítrico a 0,3%, pH 3,2. Dentre os polímeros utilizados o pirofosfato, tripolifosfato, polifosfato, goma xantana e carboximetil celulose reduziram a taxa de dissolução da hidroxiapatita. Os autores atribuem este efeito protetor à ligação de fosfato condensado ou a formação de uma camada de goma xantana adsorvida na superfície de hidroxiapatita. 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. 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 horas (Needleman et al., 1997).

Ainda sobre possíveis estratégias de prevenção 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 fluoropolímeros. Estas foram depositadas como finas películas sobre discos de hidroxiapatita de cálcio e em amostras de dentes humanos. Concluíram que soluções compostas por flúor e polímero inibiram 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 a 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, os mais notáveis são as forças de cisalhamento associadas com a fala, a deglutição e mastigação, bem como a diluição e limpeza efetuada pela continua produção de saliva (Rathbone et al., 1994). As tentativas para aumentar este tempo de ação e, conseqüentemente, proteção à estrutura dental mantendo suas concentrações terapêuticas, utilizam 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, utilizando 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 controle do biofilme dental, impeça o 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. 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.

Em um estudo *in vitro*, Ávila et al. (2017) associaram os polímeros Carbopol 980, Carboximetil Celulose e Aristoflex AVC ao fluoreto de sódio, com o intuito de avaliar o efeito remineralizante e protetor da solução fluoretada frente a um desafio erosivo de 5 dias. 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, seguida por tratamentos com as soluções contendo os polímeros associados ou não ao fluoreto de sódio (900 ppm) e imersão em saliva artificial. 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. Por meio de medidas de microdureza Knoop e perfilometria, foram avaliadas a erosão inicial e desgaste erosivo, respectivamente. 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, novamente o Carbopol apresentou significativamente maior proteção contra erosão em comparação ao grupo controle contendo somente 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. Os autores puderam concluir que o Carbopol, sozinho ou associado ao NaF, apresentou efeito protetor contra a desmineralização do esmalte após o desafio erosivo. 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.

Sendo assim, alguns estudos comprovam que a adição de polímeros nas soluções podem proporcionar um aumento do efeito remineralizante e proteção destas na cavidade oral, porém abrem espaço para estudos futuros no que diz respeito à associação de polímeros com soluções fluoretadas como potenciais responsáveis por uma maior interação e adsorção de fluoreto na superfície dental erodida. Desta forma, possivelmente sua associação a agentes bioadesivos testada *in vivo* possa apresentar efeito protetor mais pronunciado do que o observado *in vitro* (Ávila et al., 2017).

2.4.1 Polímero Carbopol

A revisão sobre o polímero Carbopol foi baseada em fichas de dados técnicos, todas disponíveis pela fabricante do polímero (Lubrizol Inc., Cleveland, OH, EUA). A literatura farmacêutica sobre a manufatura e utilização do polímero está disponível no site da fabricante.

Polímeros do tipo Carbopol $(-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-)_n$ são polímeros de ácido acrílico de alto peso molecular, com valores médios na ordem de 500.000, formado por grupos carboxila, quimicamente reticulado com éteres polialcenílicos ou divinil glicol de caráter aniônico e são polímeros muito higroscópicos, apresentando alta capacidade em absorver água. Polímeros são misturas heterogêneas de monômeros homólogos (TDS-222, 2007). Quando o peso molecular de um polímero é discutido, geralmente o que está sendo referido é realmente o peso molecular médio destes homólogos. Pesos moleculares de polímeros reticulados são caracterizados pelo comprimento da cadeia principal entre ligações cruzadas adjacentes. Cada estrutura de rede (uma única partícula) pode ser visto como uma única molécula. A massa da partícula é o peso molecular, assumindo que todas as cadeias poliméricas são interligadas por ligações químicas ou ligações cruzadas. Sendo assim, o alto peso molecular do polímero Carbopol 980 se dá pelo peso molecular das substâncias que o sintetizam, como o ácido acrílico ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$), acetato de etila ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) e ciclohexano (C_6H_{12}) e por cada unidade monomérica que o compõe (TDS-222, 2007). Segundo a fabricante, o Carbopol 980 foi desenvolvido para substituir o Carbopol 940, oferecendo as mesmas propriedades de desempenho, com o diferencial de não ser polimerizado em benzeno (substância com potencial cancerígeno proibida em alguns países) como os polímeros “tradicionais” (Bulletin-21, 2011). Os sistemas de solventes utilizados para sintetizar os polímeros evoluiu, os polímeros “toxicologicamente

preferidos” são sintetizados em acetato de etila ou na mistura co-solvente acetato de etila/ciclohexano.

O ácido acrílico utilizado para manufatura do polímero Carbopol 980 é como se chama vulgarmente um dos ácidos carboxílicos (RCO_2H), uma classificação de compostos orgânicos. Eles são orgânicos porque contêm carbono (C) na sua estrutura química que participa um grupo hidroxila e um grupo funcional carbonila. Os ácidos carboxílicos são utilizados como precursores para formação de outros compostos, por isso sua função como solvente para manufatura do polímero Carbopol, são substâncias polares e podem formar ligações de hidrogênio entre si ou com moléculas de outra espécie.

Polímeros do tipo Carbopol são compostos por pó de partículas floculadas com uma média de 0,2 micrometros de diâmetro (TDS-103, 2007). Cada partícula pode ser vista como uma estrutura de rede de cadeias poliméricas interligadas por ligações cruzadas. Sem as ligações cruzadas, a partícula primária é uma coleção de cadeias poliméricas lineares entrelaçadas, mas não quimicamente ligadas. Esses polímeros lineares são solúveis em um solvente polar, como a água. O polímero Carbopol 980 aumenta na água até mil vezes o seu volume original para formar um gel, quando exposto a um ambiente de pH acima de 4. Embora sua aplicação não seja limitada a sistemas aquosos, o polímero Carbopol deve muito de sua excepcional utilidade à sua natureza hidrofílica, ou afinidade para água. Uma única partícula de Carbopol vai se molhar muito rapidamente quando colocado em água. Como muitos outros pós, os polímeros de Carbopol tendem a formar aglomerados de partículas quando dispersos ao acaso em solventes polares (TDS-237, 2009). Assim, os polímeros de Carbopol funcionam como eficientes espessantes e estabilizadores para suspensões ou emulsões, são substâncias polares e altamente solúveis tanto em água quanto em outros solventes polares (substâncias polares tendem a se dissolver em líquidos polares, é o que comprova a regra “Semelhante dissolve semelhante”).

Os solventes polares são aqueles cujas moléculas constituintes apresentam regiões eletronicamente densas (assim, com maiores momentos dipolares e maiores constantes dielétricas), e que por isso têm facilidade em solvatar (criar uma camada sobre o soluto) quaisquer substâncias de características também polares. A água está entre os solventes polares mais conhecidos. Na classe dos solventes apolares está o hexano, caracterizado pela ausência, ou baixa ocorrência, de regiões eletricamente densas nas moléculas constituintes (assim, com menores momentos dipolares e menores constantes dielétricas).

É necessário conhecer os métodos e cuidados para dispersão dos polímeros em solventes. Os melhores resultados de dispersão e solvatação (processo de interação entre as moléculas do solvente e as moléculas do soluto para formar agregados sem formar substâncias novas) são alcançados com agitação moderada de aproximadamente 800-1500 rpm (TDS-103, 2007). A agitação severa resulta em defeitos de dispersão, como textura granulada, viscosidade reduzida ou a presença de partículas insolúveis. Para preparos de alta qualidade e dispersões reprodutíveis de polímeros de Carbopol, a própria técnica de dispersão deve ser cuidadosamente seguida. Misturadores de alto cisalhamento ou homogeneizadores devem ser evitados ou cuidadosamente empregados. A intensidade de mistura gerada por este tipo de misturador pode cortar o aberto (hidratado) dos polímeros resultando em perda permanente de viscosidade. Se homogeneizadores são utilizados, o polímero Carbopol deve ser inicialmente umedecido com moderada agitação. Um dispositivo de peneiração como uma peneira grossa ou uma malha não corrosiva de tela metálica pode ser usada para polvilhar lentamente o polímero Carbopol na água. O método de peneiração permite a adição lenta e controlada do polímero Carbopol seco, permitindo que cada partícula se molhe na água. A peneira ou tela permite a quebra de qualquer polímero ou aglomerados soltos devido a carga estática nas partículas. Uma tela

metálica diminui a tendência de carregar mais estática nas partículas enquanto são peneiradas.

Basicamente, há quatro métodos utilizados pelos formuladores que, em geral, funcionam para todos os ingredientes, embora alguns sejam mais apropriados que outros, conforme a molécula e o solvente (TDS-103, 2007). Primeira opção é a dispersão estacionária, feita pela imersão do espessante no solvente e mantido em repouso até hidratação/dispersão completa (em geral, 12-24 h). Como segunda opção, a dispersão com agitação é feita com o solvente mantido em agitação e o espessante é adicionado, hidratando-se e/ou dispersando-se de modo acelerado (em geral, 30 min – 1 h). Em muitos casos, adicionar o espessante lentamente evita a formação de grumos, economizando tempo ao fim do processo. A terceira opção é a dispersão com agitação e calor, o solvente é pré-aquecido e mantido sob agitação e/ou temperatura controlada, enquanto o espessante é adicionado (em geral, 30 min – 1 h). Por fim, a quarta opção é a dispersão com adjuvantes, em que o pó espessante é misturado com um agente molhante (glicerina, propilenoglicol etc.) ou com algum outro pó presente na fórmula (NaCl, MgSO₄, sorbitol etc.), a fim de separar ao máximo suas partículas e facilitar a dispersão ao adicionar o solvente (em geral, 30 min – 1 h). A adição do solvente pode contar ainda com agitação e calor, se necessária.

Como já mencionado, polímero Carbopol se dissocia em água e em solventes polares, portanto o entendimento de polaridade é um fator importante quando se diz respeito à dispersão dos polímeros em solventes. A polaridade está ligada à eletronegatividade das substâncias; para substâncias polares os potenciais de eletronegatividade dos átomos que a compõe são diferentes e para substâncias apolares a eletronegatividade dos átomos é igual. Como exemplo, temos que o NaF e a água são polares. O NaF é formado por átomos de sódio (Na) e flúor (F) que se unem por meio de ligações iônicas, em que o sódio doa definitivamente um elétron para o flúor, formando os íons Na⁺ e F⁻. Como esses íons possuem

cargas opostas, eles se atraem e se mantêm unidos (Na^+F^-). Isso mostra que o fluoreto de sódio é realmente polar (toda ligação iônica é polar), pois existe a diferença de carga elétrica no composto. Já no caso da água, a ligação existente é covalente, na qual dois átomos de hidrogênio compartilham elétrons com um átomo de oxigênio. A molécula de água possui dois dipolos, com o oxigênio tendo a carga parcialmente negativa e o hidrogênio com a carga parcialmente positiva ($\text{O}^- - \text{H}^+$). Mas, esses dipolos não se cancelam, porque a molécula de água se encontra em um ângulo de $104,5^\circ$, mostrando que a distribuição e carga ao longo da molécula não são uniformes, há uma maior densidade de carga negativa sobre o átomo de oxigênio da molécula. Isso mostra que a molécula de água é realmente polar. Assim, quando adicionamos o fluoreto de sódio na água, a parte positiva do NaF, que são os cátions Na^+ , é atraída pela parte negativa da água, que é o oxigênio, e a parte negativa do fluoreto de sódio (ânions F^-) é atraída pela parte positiva da água (H^+). Consequentemente, a união Na^+F^- é desfeita, solubilizando o fluoreto de sódio na água.

Os polímeros de Carbopol são moléculas ácidas fortemente enroladas uma vez dispersas em água, as moléculas começam a se hidratar e parcialmente desenrolar. Sabe-se que os polímeros incham quando hidratados e neutralizados, formando uma dispersão coloidal, a maneira mais comum de atingir o máximo espessamento dos polímeros de Carbopol é convertendo o polímero ácido Carbopol em um sal. Isto é facilmente alcançado neutralizando o polímero Carbopol com uma base comum. Para formulações de gel é necessária sua neutralização com pH aproximadamente 5,8, sendo a máxima viscosidade e transparência no gel conseguida com o pH 7, e a viscosidade e transparência mais aceitáveis começa no pH 4,5 a 5 e se estende ao pH 11 (TDS-237, 2009).

O polímero Carbopol, quando disperso em água, umecta e forma uma dispersão aquosa com valor de pH na faixa de 2,8 - 3,2. Neste estado pré-dissolvido a molécula de Carbopol está extremamente enrolada e sua capacidade

espessante é limitada. Para obter o espessamento é necessário então que se faça a neutralização com bases inorgânicas alcalina ou amina adequadas após sua completa dissolução, geralmente se neutraliza o polímero de Carbopol com hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH). Ao ser neutralizado o polímero Carbopol “estica”, devido a conversão dos grupos ácidos da cadeia polimérica em sua forma de sal, formando a estrutura estendida com aumento da viscosidade.

De uma maneira geral o processo de neutralização se deve ao fato de que o Carbopol trata-se de um polímero em que se adicionou grupos polares (carboxilas), que conforme o pH podem se encontrar no estado associado (COOH) ou dissociado (COO⁻, isto é, com carga negativa). Quando na forma de pó, a maior parte das carboxilas está neutralizada (COOH) e a molécula forma um emaranhado compacto. Ao hidratar o polímero, parte das carboxilas ainda se encontrará no estado associado (COOH), mas o número de cargas negativas aumenta (COO⁻), fazendo a molécula se desemaranhar e se estender, aumentando ligeiramente a viscosidade. Com a adição de uma base, mais carboxilas se dissociam, aumentando a repulsão entre as moléculas de carbomero, que são obrigadas a se organizarem ainda mais, resultando na formação do gel (Bulletin-7, 2008).

O polímero Carbopol é considerado um modificador de reologia. A reologia diz respeito ao movimento dos fluidos em geral, e no caso dos cosméticos, por exemplo, está intimamente relacionada com a textura e a agradabilidade de um creme, gel, loção e muitas outras formas cosméticas. A adição de espessantes tem impacto direto sobre a viscosidade, uma das propriedades reológicas dos líquidos e semi-sólidos, que por sua vez está relacionada com a espalhabilidade e a textura de um produto aplicado sobre a pele, bem como com sua estabilidade ao longo do tempo (Bulletin-3, 2011). Geralmente, espessantes são substâncias de elevado peso molecular e com cadeias

poliméricas. Ao dispersar essas substâncias em água ou em outro solvente há uma organização no sistema (isto é, na fórmula). Essas grandes moléculas vão competir por espaço físico e procurarão se distribuir no meio disponível, de forma a acomodar cada uma de suas semelhantes (bem como, os demais ingredientes da fórmula). Vale lembrar que embora ligeiramente mais organizadas, as moléculas ainda podem se movimentar.

De um modo bastante simplificado, duas coisas podem acontecer: essas moléculas têm afinidade entre si (interação de van der Waals, pontes de hidrogênio etc.) e vão interagir parcialmente, utilizando cada uma de suas cadeias para formar uma rede; ou essas moléculas vão repelir umas às outras, devido ao efeito de cargas positivas ou negativas (eletrostática), e essa repulsão se ocupa de mantê-las estruturalmente organizadas e bem distribuídas dentro do espaço disponível, sendo este o fenômeno que acontece com o polímero Carbopol quando neutralizado. Felizmente, os formuladores dispõem de uma considerável variedade de ingredientes que podem ser utilizados para modificar reologicamente um produto quando o solvente é a água, derivados do carbômero e do ácido acrílico, como o Carbopol, podem ser utilizados.

Por se tratar de um ácido orgânico, é importante que se fale sobre constante de dissociação (pK_a) do polímero Carbopol. O pK_a é um valor que quantifica a acidez e basicidade de uma substância. A relação entre acidez e pK_a é inversa, ou seja, quanto maior o valor de pK_a mais fraco é o ácido. Quando o pK_a é menor que 1 se tem um ácido muito forte, quando o pK_a vai de 1 a 5 se tem um ácido forte, com pK_a entre 5 e 15 se tem um ácido fraco e quando o pK_a é maior que 15 o ácido é muito fraco. Cada função orgânica possui seu pK_a específico; ácidos carboxílicos possuem o pK_a característico mais baixo, entre 3 e 5, sendo classificados como ácidos moderadamente fortes. Porém o polímero Carbopol tem o valor de pK_a igual a $6 \pm 0,5$, sendo classificado como um ácido

fraco, os grupos carboxila do polímero ionizam, resultando em repulsão entre partículas negativas, o que aumenta o inchaço do polímero (TDS-237, 2009).

Os polímeros Carbopol® podem ser usados em uma série de produtos de higiene bucal, incluindo cremes dentais e géis, dessensibilizantes e branqueadores, bem como adesivos para próteses dentárias. Eles funcionam principalmente como espessantes e ligantes eficientes e fornecem suspensão de ativos ou excipientes não solúveis. A estrutura viscoelástica dos polímeros de Carbopol confere reologia e baixa tixotropia. Adicionalmente, os polímeros de Carbopol podem ser usados para auxiliar na adesão e entrega de formulações aos dentes e podem aumentar o tempo de retenção de agentes aromatizantes. Os polímeros Carbopol podem ser incorporados em comprimidos, pastilhas e películas bucais para proporcionar propriedades bioadesivas e / ou de libertação controlada e apresentam melhor desempenho em um creme dental parcialmente neutralizado do que o sistema não neutralizado.

O polímero Carbopol 980 apresenta propriedades de mucoadesão, retendo-se nas superfícies mucosas, é um agente ativo de superfície mineral polimérica, protegendo a superfície do esmalte da desmineralização, devido a sua forte atração pelo cálcio, evita a fixação do biofilme ao esmalte, pela formação de um filme protetor e melhora a deposição de compostos ativos para a superfície de esmalte, como um veículo de entrega devido às suas propriedades bioadesivas (Hicks, Flaitz, 2007; Amjad, 2013).

Como os polímeros Carbopol são aniônicos, não se espera que sejam compatíveis com ingredientes catiônicos. No entanto, em geral, se os ingredientes catiônicos forem de peso molecular moderado a elevado, eles não interferem na eficiência dos polímeros. O Carbopol é uma molécula com muitos centros de carga negativa, o que facilita sua interação com o cálcio da estrutura dentária, característica encontrada em ácidos carboxílicos os quais apresentam uma forte afinidade com elementos alcalino terrosos como o cálcio, por exemplo.

Cerca de 95% do esmalte de nossos dentes é mineral, composto por uma molécula denominada hidroxiapatita. Esta molécula química é composta por Cálcio (Ca), Fosfato (PO_4) e Hidroxila (OH), temos então a seguinte molécula: $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. A afinidade do polímero com o cálcio possibilita a formação de um filme sobre o esmalte, mas esta ligação com o cálcio não é tão forte quanto a do flúor. Quando o Carbopol é combinado com flúor, ambas as moléculas são negativas, portanto, o Carbopol não favorece a aproximação de mais íons F^- , nesse caso, o efeito protetor está provavelmente relacionado a uma ação combinada de ambos os agentes, ou seja, do Carbopol se ligando nos locais onde o flúor não se ligou (Ávila et al., 2017).

2.5 Métodos para quantificação de lesão erosiva

Attin e Wegehaupt (2014) expõem 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 são discutidos. Os autores ressaltam que a natureza complexa da perda de mineral pelos desafios erosivos não pode ser compreendido 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, como complemento à estes estudos a análise perfilométrica é feita para avaliar a progressão da desmineralização para a perda tecidual irreversível, desde que esta perda exceda 0,4 μ m, assim como a rugosidade desta superfície (Attin, Wegehaupt, 2014).

Ganss et al. (2005) compararam a microrradiografia longitudinal, a perfilometria e a análise quantitativa de cálcio e fosfato, 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 minutos 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 menor que 20 μ m.

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 pH3,8 por sete tempos distintos. Para análise utilizaram escâner por microscopia eletrônica, microscopia por força atômica e nanoidentação. 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, Wegehaupt, 2014), o correto armazenamento das amostras, conhecimento das técnicas pelo operador e assim executa-las com êxito e correta avaliação de resultados obtidos. Em um estudo *in vitro* Attin et al. (2009) avaliaram o quanto o ressecamento da dentina e do esmalte influencia a análise perfilométrica. Para isto, utilizaram amostras cilíndricas de esmalte e dentina, as quais foram armazenadas em água deionizada por uma semana, em seguida foram imersas em HCl, pH 2,6 por 2 minutos. 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 minutos (condição 1 e 2) e 72 horas (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.

3 PROPOSIÇÃO

A proposta do presente estudo é avaliar a influência do polímero bioadesivo Carbopol 980 no efeito protetor de soluções fluoretadas sobre o desenvolvimento da erosão dental. Para isso este estudo foi dividido em duas etapas, uma *in vitro* e uma *in situ*:

- a) a proposta da etapa 1 foi avaliar *in vitro* a influência da incorporação do polímero bioadesivo Carbopol 980 associado ao fluoreto de sódio associado ou não ao cloreto de estanho quanto ao potencial de dissolução da hidroxiapatita e ao efeito protetor sobre a erosão inicial do esmalte (efeito na camada amolecida). Adicionalmente, foi analisada a concentração de flúor fracamente adsorvido à superfície do esmalte após o tratamento com as soluções testadas;
- b) a proposta da etapa 2 foi avaliar *in situ* a influência do polímero bioadesivo Carbopol 980 no efeito protetor de uma solução fluoretada sobre o desenvolvimento do desgaste erosivo, associado ou não à abrasão.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Nas duas etapas deste estudo houve procedimentos comuns a ambas, portanto, para facilitar a leitura e um melhor entendimento, estes foram descritos uma única vez. Os procedimentos singulares de cada etapa foram descritos em seções específicas seguindo o delineamento experimental de cada etapa.

4.1 Comitê de ética

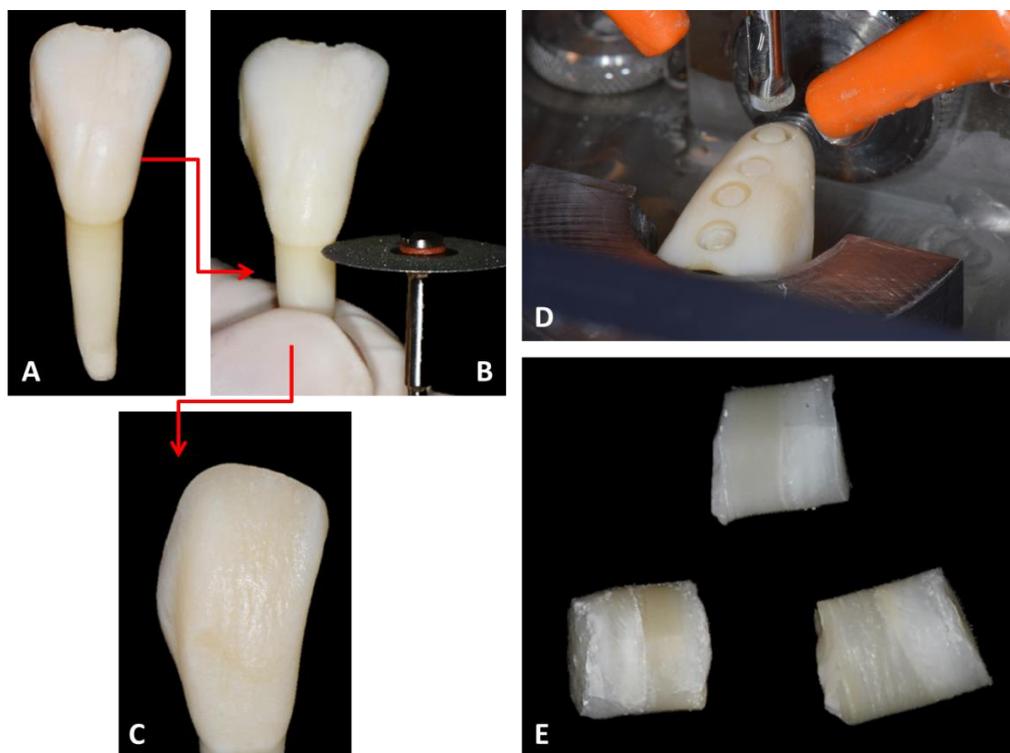
Não houve a necessidade do presente estudo ser analisado pela Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA), pois a pesquisa não envolve a utilização de vertebrados e sim o uso de dentes bovinos como substrato comercialmente disponível, de acordo com a Lei nº 11.794 de 08/10/2008 – Lei “Arouca”. Devido à participação de voluntários para coleta da saliva e por se tratar de um trabalho *in situ* que necessitou da participação de voluntários, este foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPh) (ANEXO A) do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos (parecer 1.282.774), o qual recebeu o parecer favorável, sendo aprovada sua prática. O Termo de consentimento livre e esclarecido enviado ao CEPh para o estudo *in vitro* encontra-se no ANEXO B e para o estudo *in situ* no ANEXO C.

4.2 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, ficaram 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. 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 – Corte de amostras a partir de incisivo bovino



Legenda: a) dente incisivo bovino; b) remoção da parte radicular com disco diamantado; c) coroa incisivo bovino; d) coroa posicionada em cortadeira circular perpendicular à broca trefina; e) amostras com 3 mm de diâmetro com a superfície em esmalte.

Fonte: Elaborada pelo autor.

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 mm para as amostras utilizadas na etapa 1 e 1,5 mm para as amostras utilizadas na etapa 2, utilizando um paquímetro 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 o parafuso e a dentina remanescente desgastada com lixas de carbetto de silício de granulação P800 (FEPA-P; Struers, Ballerup, Denmark), acoplada a politriz circular, 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 – Polimento e padronização das amostras em politriz



Legenda: a) amostra inserida em dispositivo metálico; b) padronização em politriz; c) amostras com a superfície da dentina planificada.

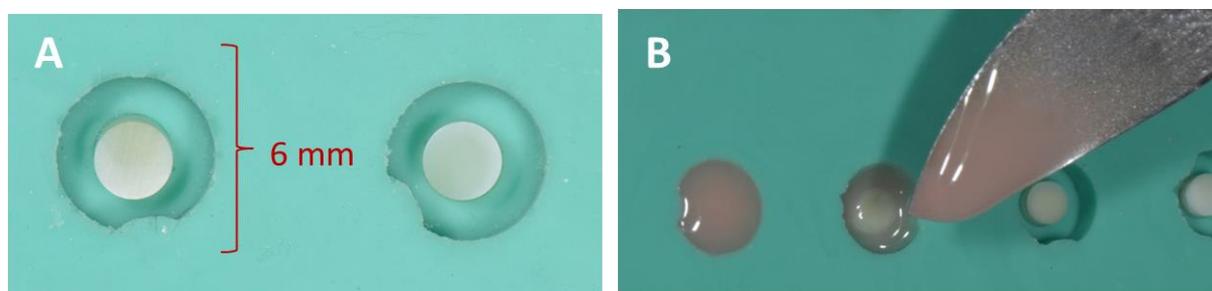
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espécimes receberam um banho final em ultrassom (5 min) após a utilização da última lixa, e as amostras foram armazenadas em solução de água deionizada 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).

Os espécimes foram embutidos em resina acrílica (ExtecFast Cure Acrylic, ExtecCorp, Enfield, CT, USA) com auxílio de uma matriz de silicone (Figura 3A e 3B) que possui uma projeção lateral em formato de curva, com objetivo de produzir na amostra uma depressão que auxilia seu correto posicionamento no equipamento perfilômetro, além de permitir a realização de duas marcações paralelas em resina acrílica para que sejam guias no momento das sobreposições dos perfis final e inicial (melhor elucidado no item Ensaio de Perfilometria). A matriz de silicone apresenta as dimensões de 6 mm de diâmetro e 3,1 mm de espessura, sendo que no interior desta existe 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 (Borges et al., 2012). Os espécimes foram inseridos em polimerizadora para minimizar a formação de bolhas na resina acrílica.

Figura 3 – Embutimento das amostras em resina acrílica



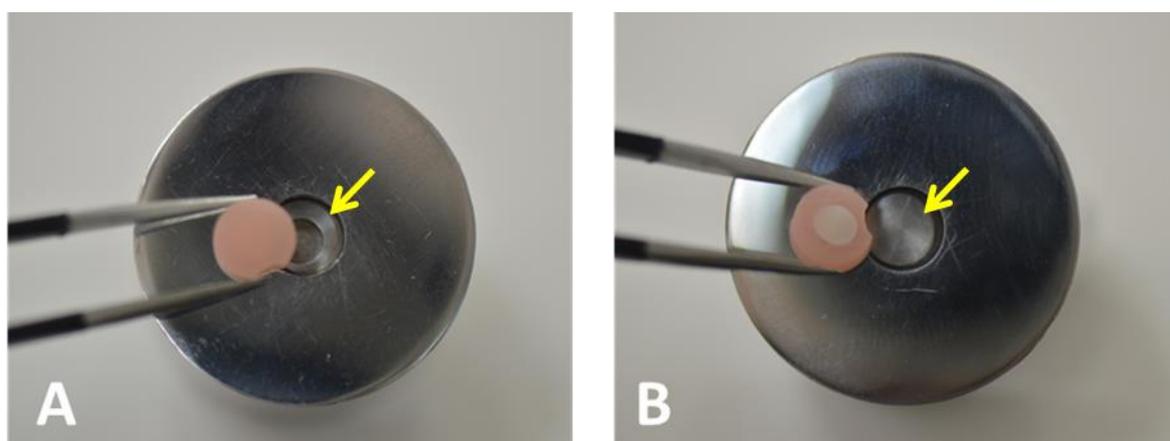
Legenda: a) amostra posicionada no centro da matriz de silicone; b) inserção da resina acrílica para embutimento da amostra.

Fonte: Elaborada pelo autor.

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 (seta na Figura A), 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 carbeto 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. 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 minutos, todas em velocidade de operação a 600 rpm da politriz circular (Borges et al., 2012). As amostras foram confeccionadas com as mesmas medidas tanto para a etapa 1 quanto para a etapa 2. Ao final desta fase de planificação e polimento das superfícies, os espécimes apresentavam 6 mm de diâmetro e 2 mm para as amostras utilizadas na etapa 1 e 1,5 mm para as amostras utilizadas na etapa 2, possibilitando assim a instalação do espécime no dispositivo intraoral (Hara et al., 2014; Wang et al., 2014) para que não houvesse a necessidade de fazer um dispositivo com espessura excessiva, causando desconforto ao paciente. 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 minutos, para remoção dos resíduos de grãos abrasivos que porventura pudessem interferir na lisura do tecido. Os espécimes receberam um banho final realizado após a utilização da última lixa, e as amostras foram armazenadas em água deionizada para reidratação (Borges et al., 2012).

Figura 4 – Planificação e polimento das amostras



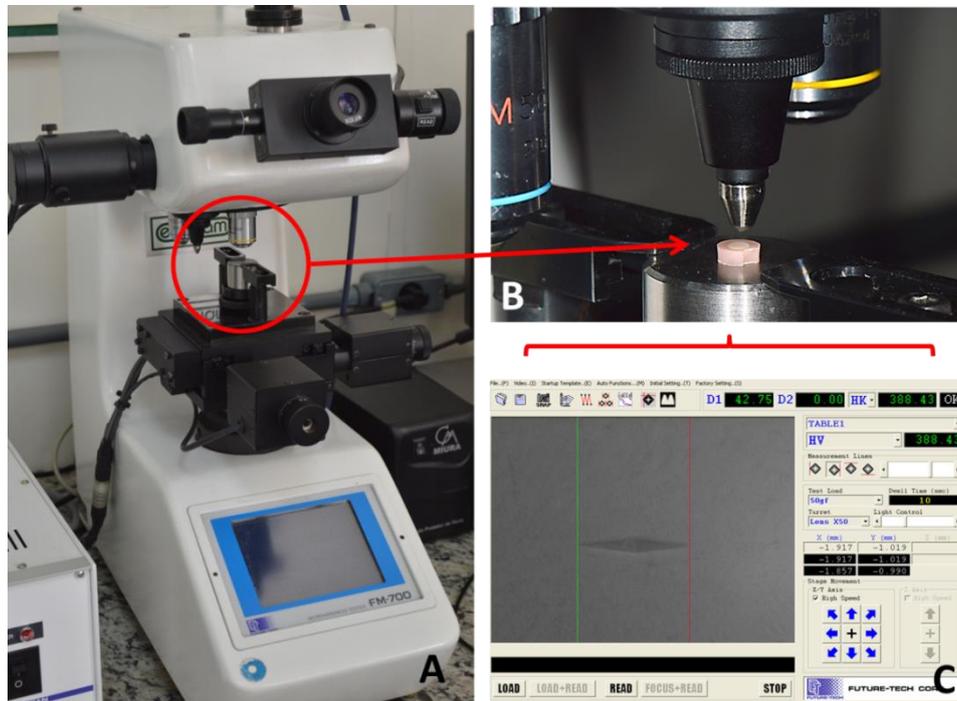
Legenda: a) posicionamento para acabamento da face de resina acrílica; b) posicionamento para acabamento e polimento da face de esmalte.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3 Avaliação da microdureza inicial e seleção das amostras

O ensaio de microdureza inicial (HK 1) foi realizado em todas as amostras das duas etapas deste estudo (*in vitro* e *in situ*). Após a determinação da dureza inicial das amostras, todos que apresentaram valor discrepante em 10% da média foram descartados e substituídos. Os valores de microdureza foram obtidos com indentador Knoop montado em microdurômetro (FM-700, Future-Tech, Tóquio, Japão) (Figura 5), com aplicação de carga de 50 g durante 10 segundos (Borges et al., 2012).

Figura 5 – Avaliação de microdureza Knoop

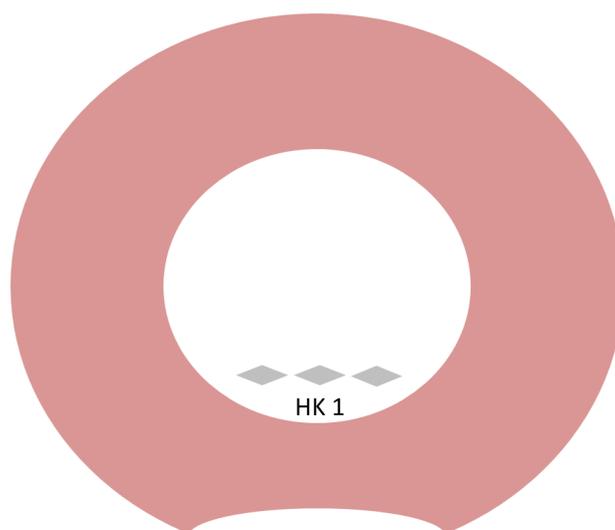


Legenda: a) microdurômetro; b) amostra em posição no microdurômetro; c) imagem de uma indentação em valores Knoop.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Três indentações foram realizadas na parte inferior dos espécimes, com distância de 100 μm entre elas, e obtido o valor médio de dureza (Figura 6).

Figura 6 – Esquema das indentações feitas para análise de microdureza



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4 Soluções experimentais

As soluções que foram testadas nesse estudo estão representadas no Quadro 1. Para o NaF a concentração utilizada foi de 500 ppm (1,1056 g/l) , para o Cloreto de Estanho foi de 800 ppm (1,28 g/l) e para o agente Carbopol, 0,1% p/v, (Lubrizol Inc., Cleveland, OH, EUA) a concentração foi determinada com base no estudo anterior (Ávila et al., 2017) no qual tomou-se a viscosidade das soluções compatíveis com a de um enxaguatório bucal. Neste estudo, diferente do estudo anterior (Ávila et al., 2017), utilizou-se 30 g/l de propilenoglicol (Lyondell, Osaco, SP, Brasil) para previamente dissolver o agente Carbopol, pois quando em

contato com NaF+Sn este polímero geleificou a solução, aumentando sua viscosidade e impedindo sua utilização como enxaguatório bucal. Quando dissolvido previamente mantinha-se a viscosidade da solução desejável, portanto optou-se por utilizar propilenoglicol para dissolução do carbopol previamente sua associação tanto com NaF quanto para NaF+Sn, para evitar viés nos resultados. A água deionizada foi utilizada como controle. As soluções foram submetidas a uma centrífuga dual assimétrica a 1.500 rpm por 10 minutos (SpeedMixer, FlackTek Inc. SpeedMixer, Landrun, SC, EUA) para uma mistura homogênea dos componentes. Nas soluções contendo Sn, foi adicionado 2,3 g/l de ácido glucônico pra estabilidade do estanho em meio aquoso.

A viscosidade das soluções foi testada para que as mesmas pudessem ser utilizadas como enxaguatório bucal como exposto acima. Para determinar e padronizar a viscosidade das soluções utilizou-se o viscosímetro vibratório SV-10 (A&D Company, Tóquio, Japão). Dois discos idênticos, chapeados a ouro, sobre hastes de apoio, são inseridos na solução a ser medida. Um atuador bate nos suportes das pás, fazendo-as vibrar a uma frequência e um deslocamento característicos das pás. A viscosidade da solução atenua essa vibração, e um sensor mede a redução no deslocamento, o atuador, em seguida, ativa continuamente as pás para manter o deslocamento constante. A corrente requerida pelo atuador é medida e esta é calibrada para dar a viscosidade em centipoise (cP). O equipamento fornece a viscosidade dinâmica da amostra e para cada amostra foram feitas duas medições, por meio da média das medições foram obtidos os valores de viscosidades das soluções testadas.

Tomamos como base o valor da viscosidade da água purificada tipo I, e com a mesma foi feita a calibração do equipamento ($1,18 \pm 0,00$ cP) e de um enxaguatório bucal disponível comercialmente Elmex Erosion® ($1,20 \pm 0,03$ cP) (GABA Laboratoires, Lörrach, Alemanha).

O pH de todas as soluções teste 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 (10° C).

Quadro 1 – Soluções experimentais, composição, concentrações utilizadas e valores de pH inicial

Soluções	Composição	g/l	pH inicial
Água (controle negativo)	N/A	N/A	N/A
Elmex (controle positivo)	800 ppm Sn ₂ (SnCl ₂) 125 ppm fluoreto de amina 375 ppm fluoreto de sódio	N/A	4,5
NaF	500 ppm fluoreto de sódio	1,1056	6,8
NaF+Carbopol	500 ppm fluoreto de sódio Carbopol 980 Propilenoglicol	1,1056 1 3	4,6
NaF+Sn	500 ppm fluoreto de sódio 800 ppm Sn ₂ (SnCl ₂) Ácido glucônico	1,1056 1,28 2,3	4,8
NaF+Sn+Carbopol	500 ppm fluoreto de sódio 800 ppm Sn ₂ (SnCl ₂) Ácido glucônico Carbopol 980 Propilenoglicol	1,1056 1,28 2,3 1 3	4,0

Legenda: N/A: não aplicável.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para o desafio erosivo, utilizou-se uma solução de ácido cítrico a 0,3%, com pH natural (2,6) (Dinâmica Ltda., Diadema, SP, Brasil). Todas as soluções utilizadas no estudo foram preparadas um dia antes de cada etapa por um dos investigadores, que esteve devidamente paramentado e utilizou instrumentos e recipientes limpos e autoclavados.

4.5 Etapa 1 - Estudo *in vitro*: Influência de soluções contendo fluoreto de sódio e cloreto de estanho associados ao polímero Carbopol na erosão do esmalte

4.5.1 Delineamento experimental

Esse estudo utilizou um modelo *in vitro*, seguindo um delineamento experimental aleatorizado.

Soluções teste, em 6 níveis:

- a) **C negativo**: Controle (água deionizada);
- b) **C positivo ELM**: Elmex Erosion® (500 ppm de NaF e Fluoreto de Amina + 800 ppm Sn, pH=4,45);
- c) **NaF**: Solução de Fluoreto de sódio (500 ppm F, pH=4,5);
- d) **NaF+Carb**: Solução de Fluoreto de Sódio + Carbopol 980 (500 ppm F, pH=4,5);
- e) **NaF+Sn**: Solução de Fluoreto de Sódio mais Cloreto de Estanho (500 ppm F+ 800 ppm Sn, pH=4,5);
- f) **NaF+Sn+Carb**: Solução de Fluoreto de Sódio mais Cloreto de Estanho + Carbopol 980 (500 ppm F+ 800 ppm Sn, pH=4,5).

Unidades Experimentais: 90 espécimes de esmalte bovino e amostras de cristais de hidroxiapatita em triplicata/solução teste.

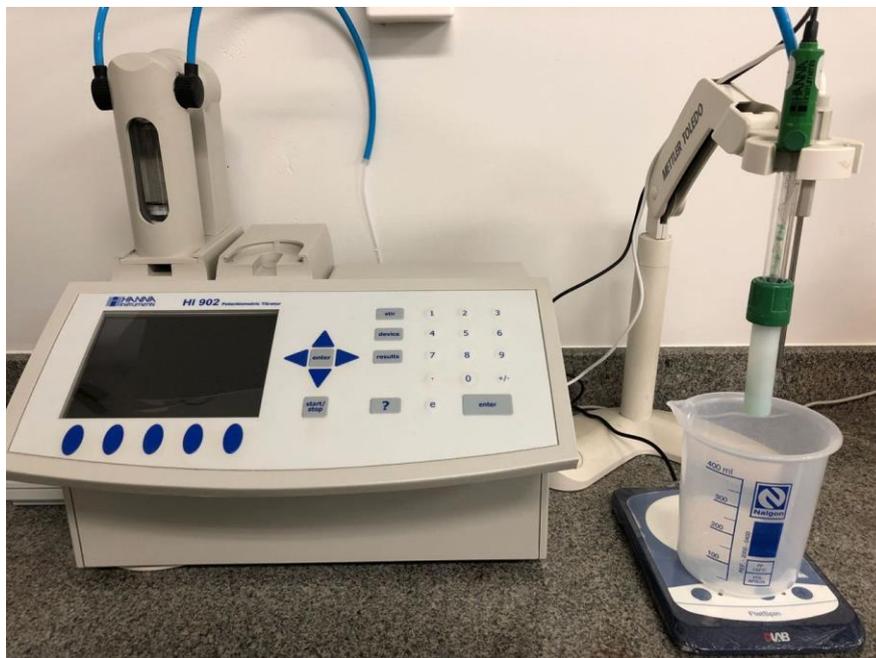
Variáveis de resposta: Quantidade de dissolução da hidroxiapatita (mg), análise de microdureza (HK) da superfície do esmalte e análise da concentração

de flúor solúvel em álcali (fracamente adsorvido na superfície do esmalte em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

4.5.2 Ensaio de estabilização do pH (*pH stat*)

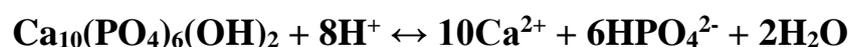
Esta etapa consistiu na avaliação do potencial protetor das soluções por meio da quantidade de dissolução da hidroxiapatita realizando o teste de estabilização do pH (*pH stat*). Para tanto, 25 mg de cristais de hidroxiapatita (Acros Organic, Geel, Bélgica) foram pesados e depositados em tubos plásticos tipo Eppendorf, em seguida foi adicionado 1 ml de solução teste. Os tubos foram submetidos à agitação por 30 segundos a 10.000 rpm, o sobrenadante foi removido e colocado em um novo tubo plástico. Em seguida foram feitos enxagues, 1 ml de água deionizada foi adicionado aos tubos, centrifugados e novamente o sobrenadante foi removido. Este procedimento de lavagem foi repetido mais uma vez, porém ao final do segundo enxágue apenas 0,9 ml do sobrenadante foi removido e colocado em um novo tubo. Os tubos foram levados ao agitador (Vortex, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) para desagregar a hidroxiapatita e permitir que ela seja utilizada na análise da estabilização do pH (Scaramucci et al., 2015). Por fim, o ensaio de *pH stat* foi realizado em uma tituladora automática (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, EUA) (Figura 7).

Figura 7 - Tituladora automática



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os cristais de hidroxiapatita previamente tratados foram adicionados à 25 ml de solução padrão de ácido cítrico 0,3%, pH 3,8 (ajustado com KOH) sob agitação magnética. Aliquotas de ácido clorídrico a 0,1N (solução titulante) foram adicionadas automaticamente a uma velocidade de 28 $\mu\text{l}/\text{min}$, para que o pH da solução fosse mantido em 3,8 durante todo o tempo de reação (5 min). O volume de ácido clorídrico adicionado para manutenção de pH foi convertido na quantidade de hidroxiapatita dissolvida em mg, de acordo com a relação volume x concentração (mol/l) de ácido clorídrico e a quantidade de hidroxiapatita dissolvida. Para este cálculo, foi considerada a seguinte reação:

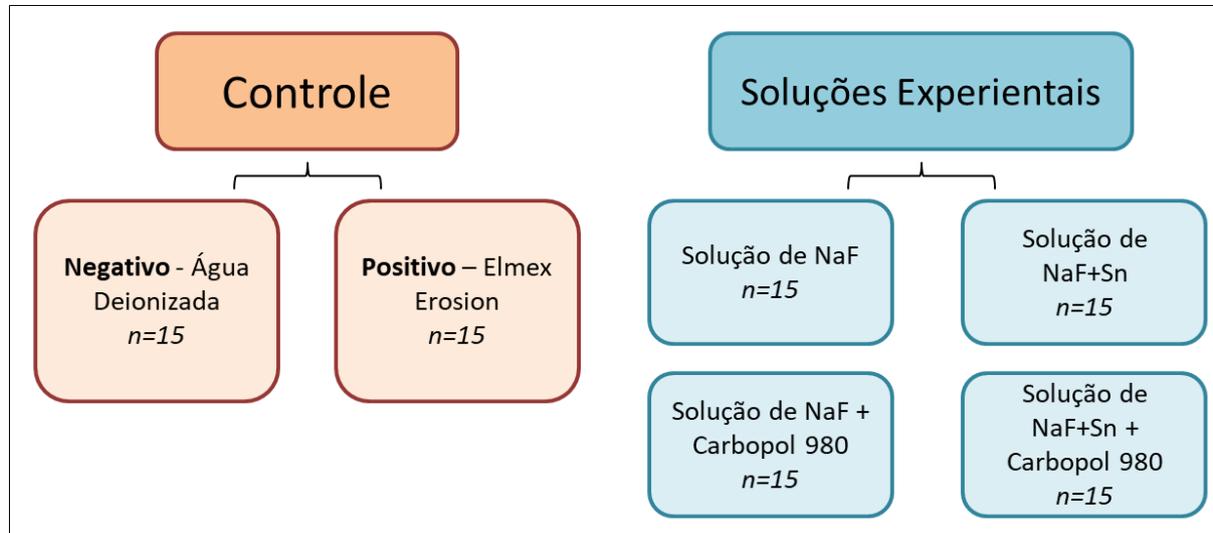


Cada 1 mol de hidroxiapatita corresponde a 8 mol de H^+ . O teste foi feito em triplicata e utilizou-se a média para análise estatística.

4.5.3 Divisão dos grupos

Para as demais análises, foram utilizados 90 espécimes de esmalte bovino cujo preparo foi previamente descrito, distribuídos de forma aleatória em 6 grupos ($n=15$), apresentados na Figura 8, de acordo com cada solução utilizada.

Figura 8 – Divisão dos grupos de estudo

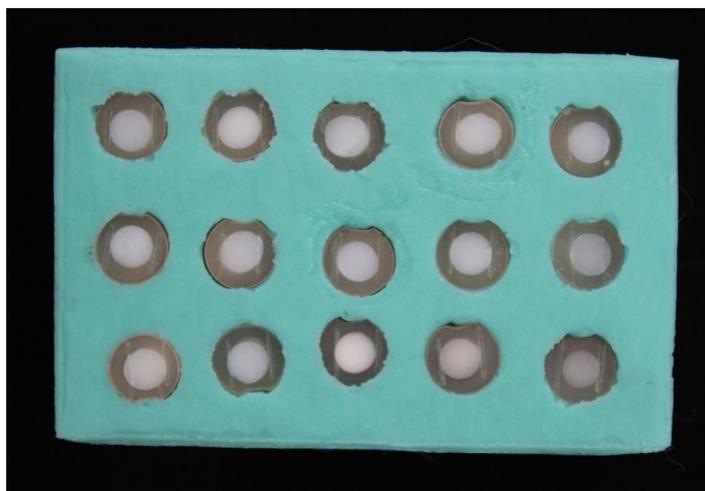


Fonte: Elaborada pelo autor.

A aleatorização foi realizada utilizando a ferramenta online “Random Sequence Generator”, disponibilizada no site www.random.org. Após a aleatorização dos espécimes em cada grupo, estes foram colocados em matrizes

de silicone identificadas, com o esmalte voltado para cima, permitindo que todos sofressem o ciclo erosivo, a formação de película e os tratamentos com as soluções de experimentais ao mesmo tempo (Figura 9).

Figura 9 – Matriz de silicone individualizada para cada grupo



Legenda: Amostras posicionadas na matriz de silicone permitindo que todas sofressem o ciclo erosivo, a formação de película e os tratamentos com as soluções ao mesmo tempo.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5.4 Formação da película adquirida

Foram selecionados 15 voluntários saudáveis, que não apresentavam sinais de erosão dental, cárie ativa, doença periodontal e sem histórico de xerostomia. Todos os indivíduos foram esclarecidos quanto à proposta da pesquisa, e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B). Antes da coleta, foi analisado o fluxo salivar dos voluntários, que deveriam possuir fluxo salivar estimulado maior ou igual a 0,8 ml/min, e fluxo salivar não estimulado maior ou igual a 0,2 ml/min. Os voluntários que se encaixaram nesses

parâmetros receberam instruções para se alimentarem normalmente pela manhã e realizaram escovação dental com dentifrício sem flúor antes da coleta, que ocorreu duas horas após o café da manhã.

Foi realizada estimulação do fluxo salivar com mastigação de Parafilm® M (Bemis Company, Inc, Neenah, Wisconsin, EUA) e para a coleta de saliva o voluntário cuspiu em tubos de plástico, tipo Falcon (50 ml). Os frascos foram mantidos no gelo, a uma temperatura média de 0°C, até atingir sua capacidade máxima de armazenamento. O resfriamento dos tubos evita que as propriedades da saliva sejam alteradas. Na sequência, a saliva coletada foi misturada para formação do *pool* salivar, que visa cruzar informações individuais dos voluntários evitando viés (Carvalho et al., 2016). Em seguida o *pool* salivar foi centrifugado (10000 rpm/4°C por 5 min) (Masson et al., 2013) dividido em tubos Falcon menores (15 ml) e congelado (-80°C) (Hara et al., 2013), até o momento de uso.

Para formação da película adquirida a saliva foi descongelada e os espécimes individualmente mergulhados em 1 ml durante 2 horas, em temperatura ambiente, sob agitação. Após esse tempo, as amostras foram removidas da saliva e lavadas com água deionizada para remoção das proteínas não adsorvidas (Masson et al., 2013).

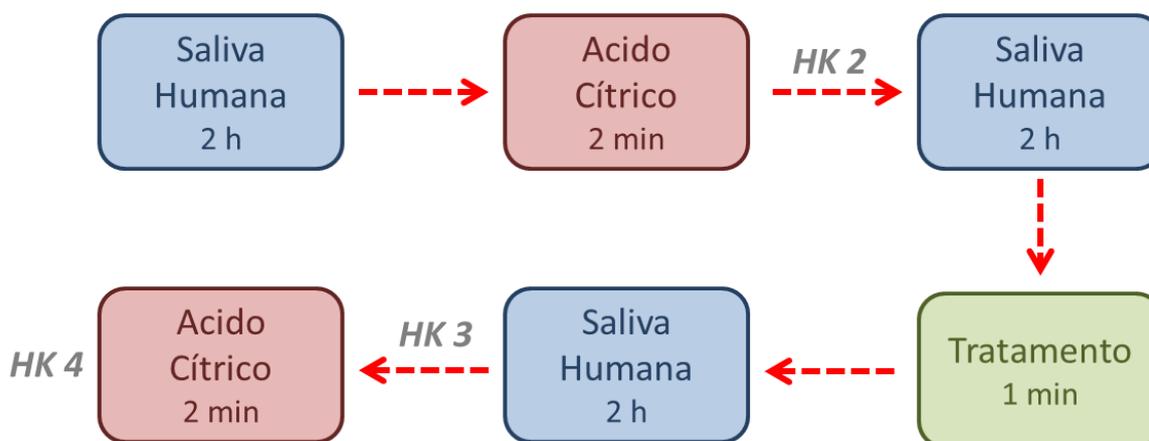
4.5.5 Desafio erosivo e tratamento com as soluções

Para o desafio erosivo inicial utilizou-se solução de ácido cítrico a 0,3%, com pH natural (2,6). Os espécimes foram imersos em ácido durante 2 minutos, sob temperatura ambiente. Posteriormente, foram lavados com água deionizada.

O tratamento dos espécimes consistiu em imersões em saliva humana por 2 horas para formação da película adquirida (3 vezes), imersão na solução teste

durante 1 minuto (1 vez) e imersões de 2 minutos no ácido cítrico (2 vezes), como ilustrado na Figura 10. Após cada imersão no ácido, as amostras foram cuidadosamente lavadas em água deionizada.

Figura 10 – Fluxograma dos procedimentos experimentais



Legenda: Ciclo do desafio erosivo e tratamento com as soluções experimentais com respectivos tempos de imersão e ensaios de microdureza (HK).

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5.6 Ensaio de microdureza

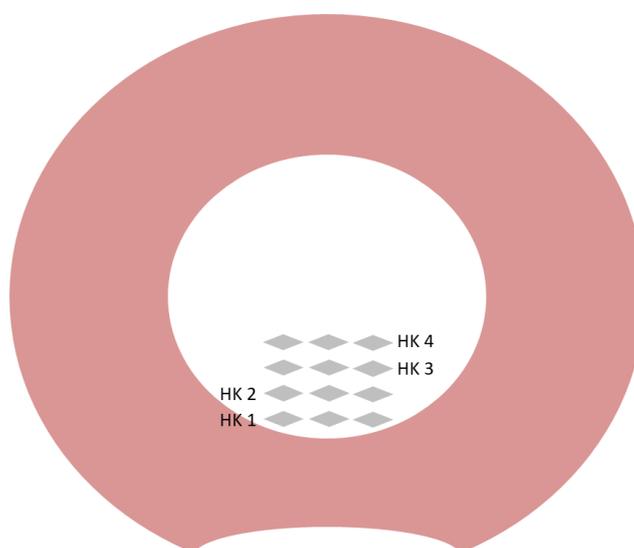
O ensaio de microdureza teve como objetivo avaliar a erosão inicial nas amostras (Lussi et al., 1993) e foi realizado em quatro momentos:

- a) HK 1- Antes da ciclagem dos espécimes, a fim de se obter a dureza inicial do esmalte sadio;
- b) HK 2 - Após a primeira imersão em ácido (2 min) para se obter o valor de dureza após desmineralização inicial;

- c) HK 3 – Após a imersão seguinte ao primeiro tratamento, a fim de se avaliar a provável ação remineralizante das soluções;
- d) HK 4 - Ao final do segundo desafio erosivo (após 2 imersões no ácido, equivalente a 4 minutos no total, intercalado com 1 imersão na solução de tratamento, equivalente a 1 min).

A partir dos valores obtidos do ensaio HK 2 as amostras foram aleatorizadas e alocadas em cada grupo com n=15. Todos os parâmetros de dureza utilizados nas mensurações finais foram os mesmos utilizados na mensuração de dureza inicial. As demais indentações foram feitas abaixo das iniciais (Figura 11).

Figura 11 – Esquema da localização das mensurações de microdureza



Legenda: HK 1 refere-se a dureza inicial; HK 2 refere-se a dureza mensurada após o primeiro desafio erosivo, desmineralização inicial; HK 3: refere-se a dureza mensurada após o primeiro tratamento e HK 4 refere-se a dureza mensurada após o segundo erosivo.

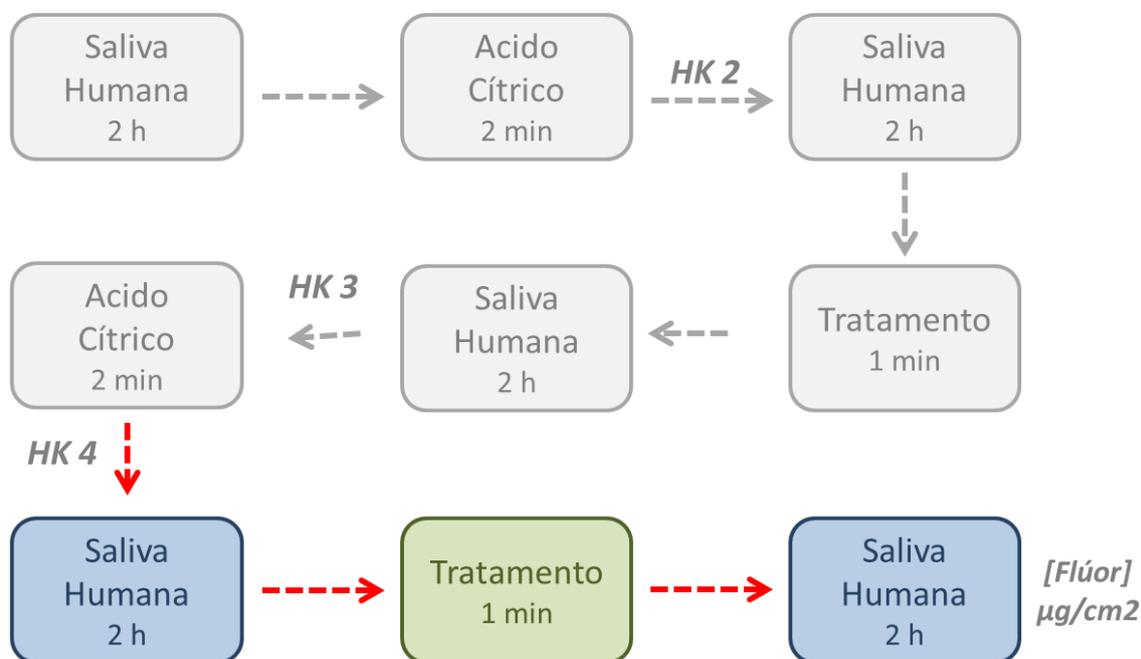
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5.7 Definição da concentração de flúor no esmalte

As análises da concentração de flúor adsorvido na superfície do esmalte (Flúor solúvel em KOH – “*loosely bound*”) foram realizadas após o término do ciclo erosivo. Após a última leitura de microdureza (HK 4), as amostras foram imersas em saliva humana por 2 horas, seguida de imersão por 1 min nas soluções de tratamento e por fim uma nova imersão em saliva humana por 2 horas, em seguida foi realizada a análise da concentração de flúor (Figura 12).

Para análise do flúor solúvel em KOH, as amostras foram mergulhadas em 0,5 ml de solução de KOH a 1 M, sob leve agitação, por 24 horas, em temperatura ambiente (Caslavská et al., 1975). Após esse período, as amostras foram lavadas em água deionizada e uma amostra da solução (0,25 ml) foi transferida para um recipiente plástico e neutralizado com 0,25 ml de solução de HClO₄ a 1 M. Então, 0,5 ml de solução de TISAB II foi adicionada ao tubo. A concentração de flúor foi determinada por um eletrodo sensível ao flúor (Eletrodo Combinado 9609BNWP, Thermo Scientific Orion, Massachusetts, EUA) e a concentração de flúor foi expressa em µg/cm².

Figura 12 – Fluxograma dos procedimentos experimentais para determinação da concentração de flúor



Legenda: Imersões em saliva humana e soluções experimentais de tratamento prévias a análise da concentração de flúor.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5.8. Análise estatística

As seguintes hipóteses nulas foram formuladas:

- a) H01: A associação do polímero Carbopol 980 às diferentes formulações de fluoreto não influenciam na quantidade de dissolução da hidroxiapatita;
- b) H02: A associação do polímero Carbopol 980 às diferentes formulações de fluoreto não influencia no efeito protetor destes na erosão inicial do esmalte, medido por microdureza;

- c) H03: A associação do polímero Carbopol 980 às diferentes formulações de fluoreto não influencia na concentração de flúor adsorvido à superfície do esmalte.

A análise estatística foi realizada pelo software estatístico Statistica for Windows (StatSoft, California, EUA) e consistiu no cálculo da média e desvio-padrão para se obter a estatística descritiva. A estatística inferencial consistiu nos testes de normalidade (Kolmogorov Smirnov), seguido por ANOVA dois fatores. Em seguida, os resultados foram submetidos ao teste de Tukey com nível de significância de 5%.

4.6 Etapa 2 - Estudo *in situ*: Avaliação do efeito protetor do flúor associado ao polímero Carbopol no desenvolvimento do desgaste erosivo

4.6.1 Delineamento experimental

Esse estudo utilizou um modelo *in situ*, prospectivo, cruzado, cego, de 3 fases, envolvendo 15 voluntários que se encaixaram nos critérios de inclusão/exclusão. Em cada fase, os voluntários utilizaram dispositivos palatais removíveis contendo 4 espécimes de esmalte dental bovino. O estudo seguiu um delineamento experimental totalmente aleatorizado, tendo 2 fatores experimentais:

Soluções teste, em 3 níveis:

- a) **C neg**: Controle (água deionizada);

- b) **NaF+Sn**: Solução de Fluoreto de sódio mais Cloreto de Estanho (500 ppm F+ 800 ppm Sn, pH=4,5) - foi escolhida a associação ao estanho com base nos resultados do estudo *in vitro* da etapa 1;
- c) **NaF+Sn+Carb**: Solução de Fluoreto de Sódio mais Cloreto de Estanho + Carbopol 980 (500 ppm F+ 800 ppm Sn, pH=4,5) - foi escolhida a associação ao estanho com base nos resultados do estudo *in vitro* da etapa 1.

Desafio, em 2 níveis:

- a) **ERO**: Erosão;
- b) **ERO + ABR**: Erosão + Abrasão.

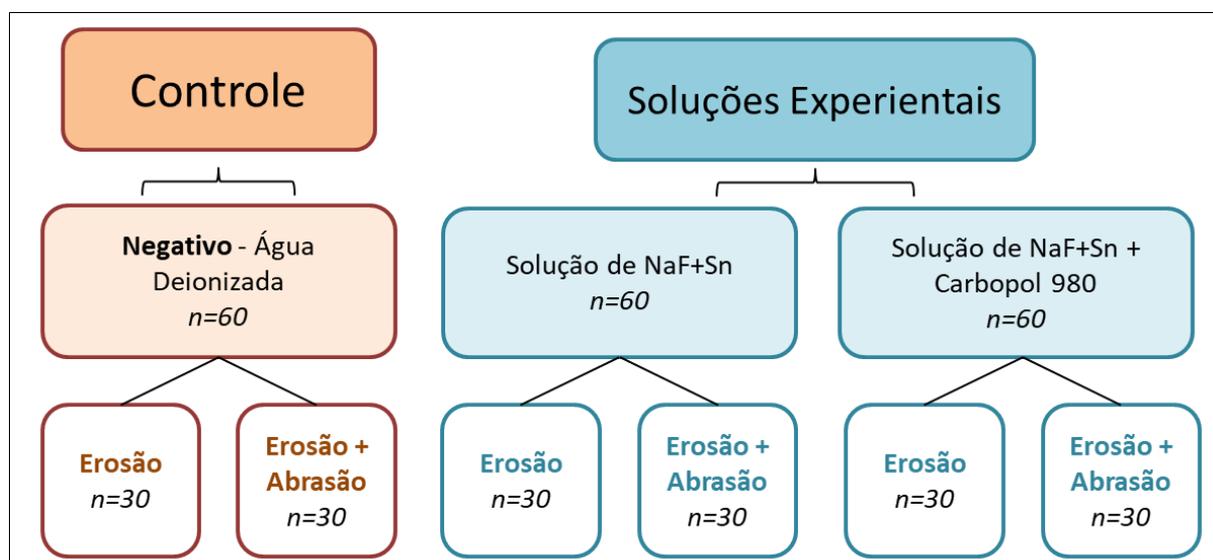
Unidade Experimental: 180 espécimes de esmalte bovino.

Variável resposta: Análise perfilométrica (perda em μm) da superfície do esmalte.

4.6.2 Divisão dos grupos

Foram utilizados 180 espécimes de esmalte bovino, distribuídos de forma aleatória em 3 grupos (n=60) de acordo com o tratamento e cada grupo subdividido em dois, seguindo os desafios (erosão e erosão+abrasão) com n=30 descritos na Figura 13, de acordo com cada solução utilizada.

Figura 13 – Divisão dos grupos de estudo



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.6.3 Cálculo do tamanho da amostra

Para esse estudo, o tamanho da amostra foi estimado a partir de um experimento *in vitro* após o ciclo erosivo de 5 dias com ácido cítrico 0,3% e tratamento diário com a solução de estudo. As médias obtidas dos valores de perda, por perfilometria, foram 2,73 μm para o grupo controle negativo e 1,8 μm para o grupo experimental (solução fluoretada), com um desvio padrão de 0,8 μm (Ávila et al., 2017). No programa estatístico online Sealed Envelope Ltd. aplicou-se o cálculo de diferença de médias e superioridade, sendo necessário um tamanho de amostra de 12 indivíduos, em cada grupo, esperando-se um poder de 80% e nível de significância 5%.

Escolhemos realizar o estudo com 15 voluntários para evitar que possíveis desistências de voluntários pudessem interferir na confiança do resultado da pesquisa.

4.6.4 População do estudo

A primeira visita para o recrutamento de voluntários do estudo foi realizada na clínica de Pós Graduação da Disciplina de Dentística do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos. Nesta primeira visita, os voluntários receberam instruções verbais sobre o estudo, incluindo todos os procedimentos nele envolvidos. Cada voluntário também foi informado dos possíveis riscos envolvidos no experimento e da confidencialidade dos dados. Todas as informações estão presentes na Carta de Informação ao Paciente (APÊNDICE A) e no Termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO C) (Resolução nº. 196 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Distrito Federal, Brasil, 10/03/1996), os quais foram assinados em duas vias, pertencendo uma ao voluntário, e outra aos pesquisadores.

Um formulário contendo a história médica do paciente também foi preenchido. Na sequência, esses voluntários receberam um exame clínico, para a determinação das suas condições orais. Após esses procedimentos, eles realizaram um teste do fluxo salivar não-estimulado e estimulado (Scaramucci et al., 2012).

Para o teste do fluxo salivar não estimulado, o voluntário ficou sentado na cadeira odontológica por 5 minutos em silêncio. Após esse período, ele engoliu toda a saliva presente na boca e iniciou a coleta, cuspidando em tubos de centrífuga graduados. Para a coleta, eles permaneceram sentados, com apenas a cabeça

abaixada e olhos abertos. A coleta teve a duração de 5 minutos e, durante esse período, os voluntários foram instruídos a não engolir a saliva. Após os 5 minutos, os voluntários cuspiram toda saliva restante na boca. A quantidade de saliva coletada no tubo foi medida (sem incluir a espuma) e esse valor dividido por 5, para a obtenção do fluxo em ml/min.

Para a saliva estimulada, o voluntário mastigou pedaços de parafilme por 1 minutos. Para começar a coleta, o voluntário engoliu toda a saliva na boca e então começou a cuspir em um novo tubo de centrífuga graduado. Essa coleta teve duração de 2 minutos, nos quais os voluntários mastigaram o parafilme, sem engolir a saliva em nenhum momento. A taxa de mastigação deve ser em torno de 70 mastigações por minuto. A posição de coleta foi semelhante à do fluxo não estimulado, ou seja, sentado, com a cabeça abaixada e olhos abertos. Ao final desse período, o volume coletado foi mensurado e dividido por 2, para a obtenção o fluxo estimulado em ml/min. Com base nas informações coletadas nessa primeira visita, os seguintes critérios foram seguidos para a inclusão dos voluntários no estudo (Scaramucci et al., 2012):

- a) Ter pelo menos 18 anos de idade;
- b) Apresentar uma boa saúde geral;
- c) Ter um fluxo salivar estimulado e não estimulado de $>0,2$ mL/min (Bardow et al., 2001) e $>1,0$ mL/min (Dawes, 2008) respectivamente;
- d) Não apresentar sinais de erosão dental, cárie ativa ou doença periodontal;
- e) Não fazer uso de aparelhos ortodônticos ou próteses removíveis.

Os critérios de exclusão do estudo foram:

- a) Pacientes dependentes químicos, como fumantes e alcoólatras;

- b) Condição médica que possa interferir na segurança do voluntário durante o período do estudo, como a utilização de medicamentos para tratamento de doenças crônicas ou reações alérgicas às substâncias e/ou produtos de higiene oral que serão utilizados;
- c) Gravidez ou intenção de engravidar durante o período do estudo;
- d) Estar em outro estudo no mesmo período.

Os voluntários receberam também instruções de que poderiam desistir do estudo a qualquer momento, por qualquer razão, se assim o desejassem. Os pesquisadores também poderiam remover os voluntários do estudo, caso achassem necessário. Se os voluntários fossem removidos por condições médicas ou odontológicas, eles seriam encaminhados aos profissionais da área médica ou à clínica de Pós Graduação da Dentística do ICT de São José dos Campos, e monitorados pelos pesquisadores do estudo até a resolução do problema, ou até que este se tornasse não significativo clinicamente.

Todos os voluntários receberam identificações por um número seguindo a ordem alfabética de seus nomes, e foram designados para a sequência de tratamento de maneira aleatorizada, de forma que as amostras também foram aleatorizadas para que cada voluntário tivesse 12 amostras no total e quais delas sofreriam abrasão ou não, em seguida foram aleatorizados o tratamento para cada fase (APÊNDICE B). A aleatorização dos tratamentos nas fases foi importante para que não houvesse influência nos resultados, uma vez que na terceira fase o voluntário estaria muito mais treinado e acostumado com o ciclo do que na primeira.

Nessa primeira consulta também foram fornecidos aos voluntários dentifrícios (Colgate Máxima proteção contra as cáries, 1500 ppm F, Colgate-Palmolive, Osasco, SP, Brasil) e uma escova dental elétrica (Escova Elétrica Oral-B Vitality, Brasil), para que fossem utilizados 2 vezes ao dia, antes da imersão do

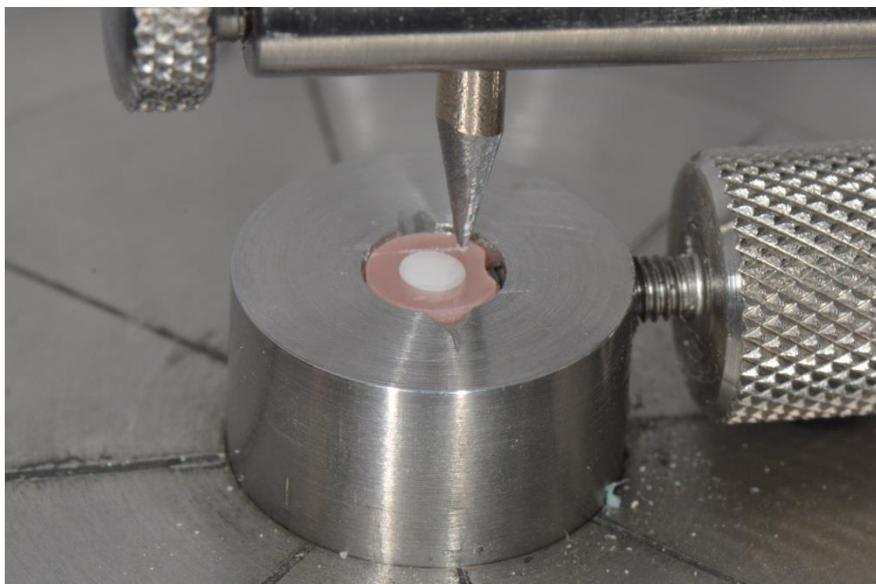
aparelho na solução teste. O contato com a escova ocorreu em apenas do lado esquerdo do aparelho (entre duas amostras) identificado por um fio ortodôntico para correta identificação pelo voluntário, por toda duração do estudo. Os voluntários não puderam escovar os dentes com a pasta 30 minutos antes do início do estudo e não puderam comer por 30 minutos antes de iniciarem os procedimentos experimentais.

Os participantes foram treinados extensivamente em relação a todos os procedimentos envolvidos no experimento. Além de receber as instruções por escrito, eles também receberam um cronograma contendo os procedimentos diários envolvidos (APÊNDICE A).

4.6.5 Ensaio de perfilometria

Para auxílio no teste de perfilometria, foram feitas duas marcações paralelas entre si nas laterais da superfície da resina acrílica, com o auxílio de um dispositivo contendo uma ponta afiada (Figura 14). 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 14 – Amostra fixada em dispositivo com ponta afiada

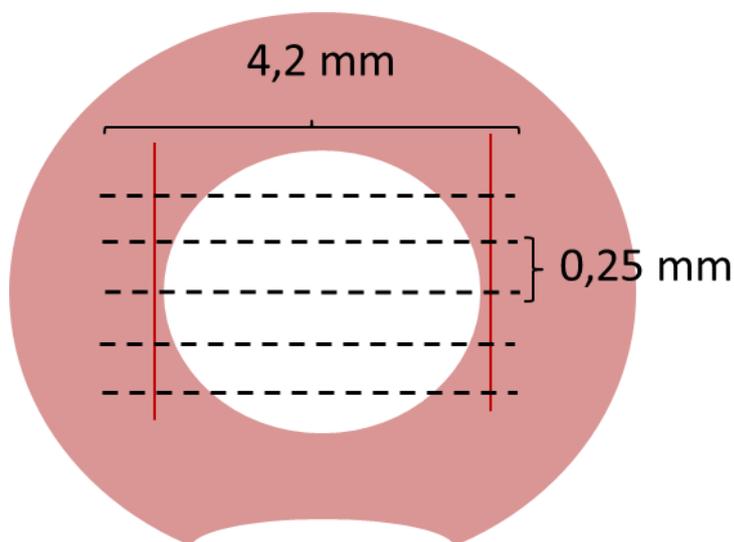


Fonte: Elaborada pelo autor.

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, 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 cinco varreduras com extensão de 4,2 mm e distância de 0,25 mm entre cada amostra (Figura 15).

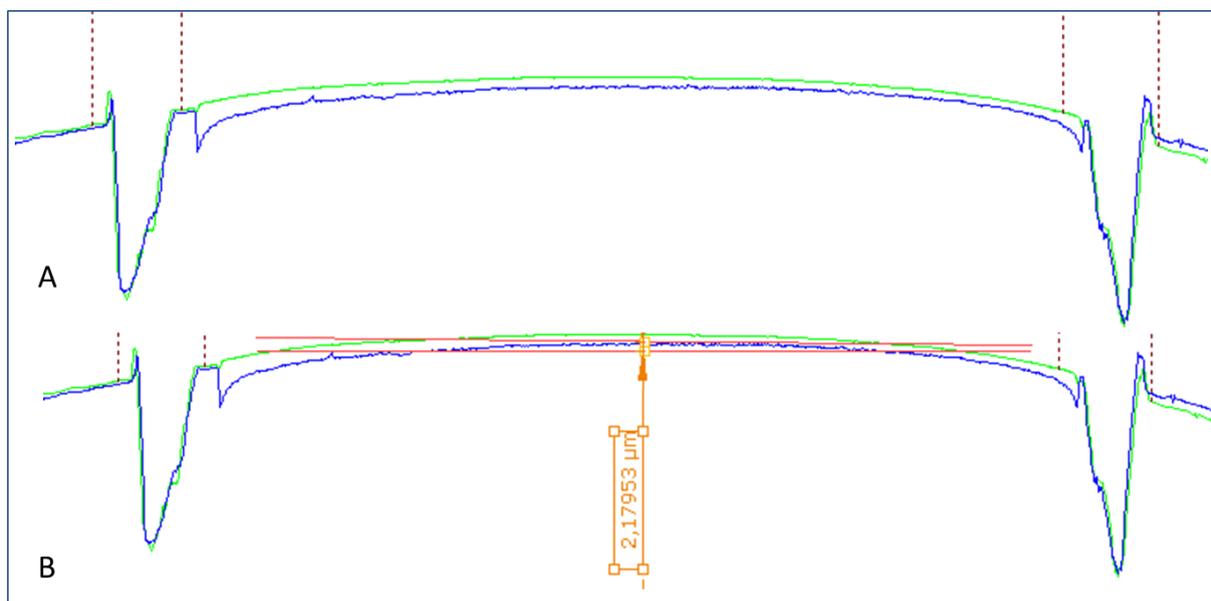
Figura 15 – Esquema das varreduras feitas para análise de perfilometria



Fonte: Elaborada pelo autor.

O desgaste do esmalte foi calculado após comparação entre os perfis iniciais e pós-tratamento, usando as marcações 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 do software dedicado ao equipamento (Mahr Surf XCR 20 4.50-07 SP3, 2011) (Figura 16). A reprodutibilidade e confiabilidade do perfilômetro foram determinadas por testes específicos seguindo a metodologia proposta por Attin et al. (2009). Para desgaste erosivo em esmalte, assumiu-se o valor de $0,153 \mu\text{m}$, isso significa que para valores de perda menores que 153 nanômetros devem ser considerados abaixo do nível de detecção do equipamento, e portanto não devem ser consideradas, ou seja, não diferentes de zero (Zanatta, 2016).

Figura 16 – Sobreposição dos perfis inicial e final



Legenda: a) sobreposição dos perfis obtidos 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.
Fonte: Elaborada pelo autor.

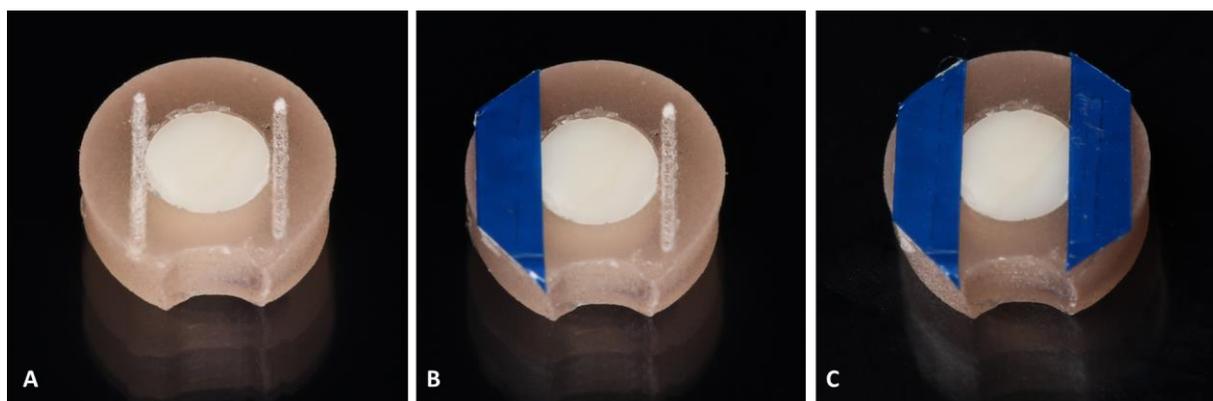
4.6.6 Esterilização dos espécimes

Após a avaliação da microdureza inicial e leitura do perfil inicial em perfilômetro de contato, os espécimes foram esterilizados com radiação gama (Wegehaupt et al., 2012) previamente à sua inserção nos aparelhos intraorais, este método de esterilização não é capaz de induzir alterações significantes nas propriedades mecânicas do esmalte (Rodrigues et al., 2004; Aivazoglou, 2009). A fonte de irradiação consiste de um irradiador experimental de Cobalto-60, modelo Gamacell 220, localizado no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN (São Paulo, SP, Brasil). Os espécimes foram dispostos em duas placas para cultivo de células de 96 poços, as quais foram acondicionadas em embalagens para esterilização em autoclave. Após a finalização do ciclo de

esterilização, os espécimes foram armazenados nas placas em temperatura ambiente até sua utilização.

Previamente à inserção das amostras no aparelho, os riscos feitos anteriormente em resina acrílica foram protegidos e cobertos com uma fita adesiva do tipo cloreto de polivinil não plastificado - UPVC (TapeCase Ltda., Illinois, EUA) para que no momento do ciclo não fossem impregnados com dentifrício impedindo a correta sobreposição dos perfis (Figura 17).

Figura 17 – Amostra com fita adesiva



Legenda: a) amostra final antes de ser colada a fita nas marcações; b) amostra com a fita adesiva em posição cobrindo uma das as marcações; c) amostra com fita adesiva em posição cobrindo as duas marcações.

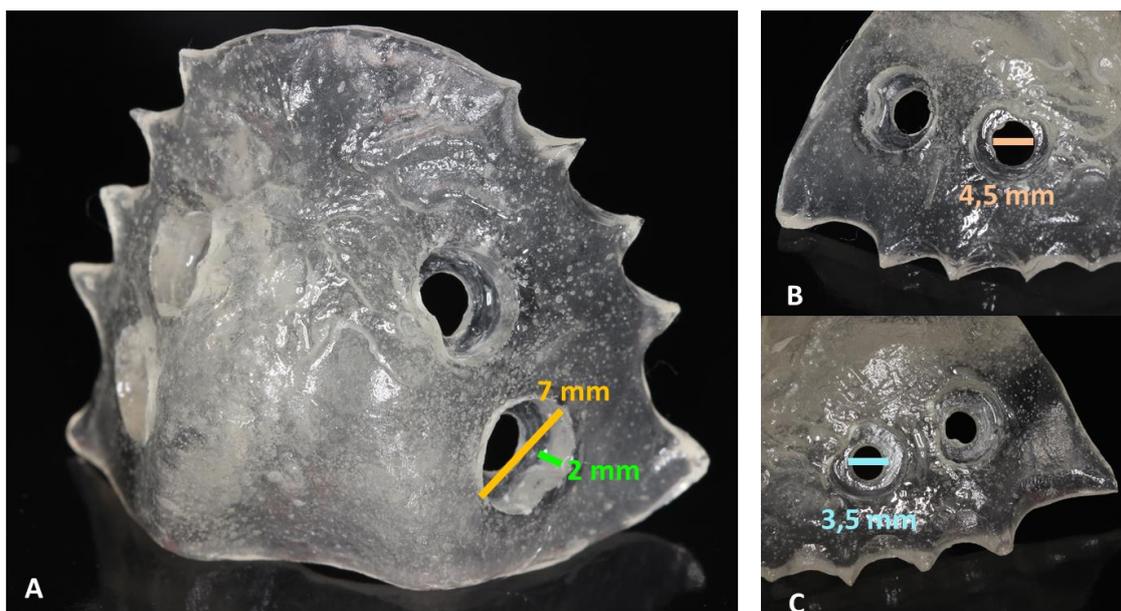
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.6.7 Preparo do dispositivo intra-oral

Os 15 participantes tiveram suas arcadas superiores moldadas com alginato de presa rápida (Jeltrate® Plus, Dentsply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil). A partir dos moldes foram obtidos modelos de gesso, nos quais foram confeccionados dispositivos intra-orais superiores de resina acrílica.

Estes dispositivos foram utilizados pelo voluntário nas 3 fases do estudo, apenas as amostras eram trocadas. Dois nichos com profundidade de 2,0 mm e largura de aproximadamente 7,0 mm (Figura 18A) foram confeccionados nesses dispositivos, nas regiões de pré-molares, em ambos os lados (Macdonald et al., 2010). Os nichos foram confeccionados no dispositivo de forma que a amostra fosse inserida pela face voltada para o palato, impedindo que se soltasse, e apenas a superfície de esmalte ficaria em contato com a cavidade oral para formação da película adquirida e para que não aconteça uma abrasão adicional indesejada na superfície dos espécimes, causada pela ação da língua. Para o lado sem abrasão, o orifício voltado para a cavidade oral tinha as dimensões de 3,5 mm de diâmetro por 0,5 mm de espessura e para o lado com abrasão as dimensões eram 4,5 mm de diâmetro e 0,5 mm de espessura (Figura 18B e 18C). Para o lado que sofreu abrasão, o orifício apresentava diâmetro maior para que as cerdas da escova pudessem entrar em contato com a superfície de esmalte.

Figura 18 – Dispositivo intra-oral

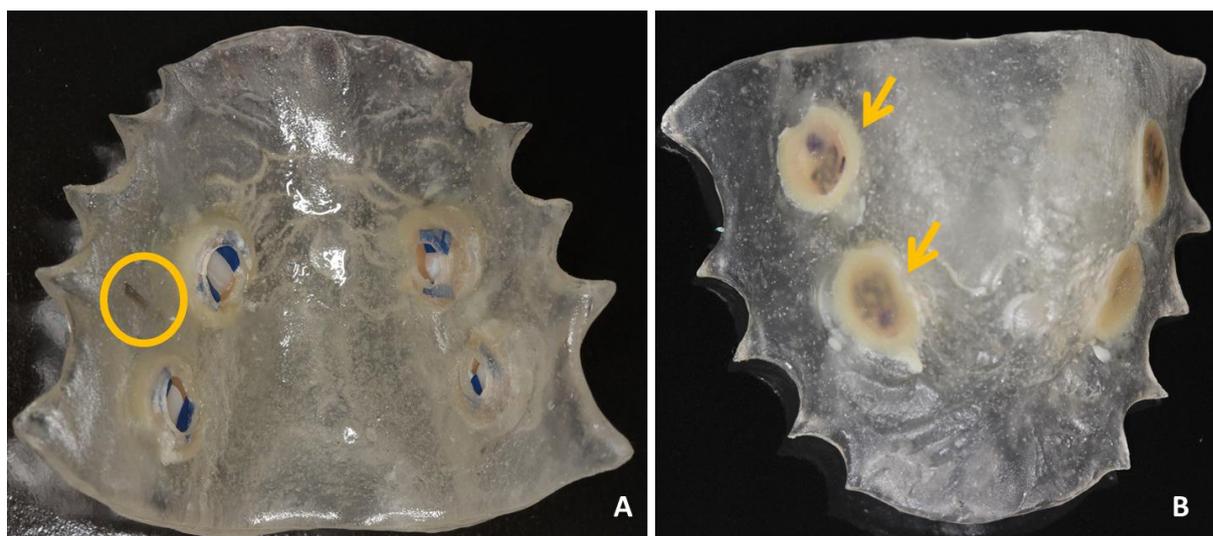


Legenda: a) dispositivo intra-oral visto pela face que fica em contato com o palato e dimensões dos nichos; b) nicho do lado de abrasão; c) nicho do lado sem abrasão.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dispositivos foram instalados e ajustados nos voluntários na segunda consulta. Nesta mesma consulta, os voluntários foram submetidos à profilaxia e receberam orientações por escrito quanto ao uso do dispositivo.

Os dispositivos foram então desinfetados com clorexidina a 0,2% por 10 minutos, seguido de lavagem com água corrente. Os espécimes foram fixados nos nichos dos aparelhos, dois espécimes de cada lado, com auxílio de cera pegajosa (Figura 19). Esse procedimento foi realizado com materiais estéreis.

Figura 19 – Dispositivo intra-oral com amostra em posição



Legenda: a) dispositivo intra-oral visto pela face voltada para cavidade oral, em destaque o fio ortodôntico para marcar o lado que recebeu abrasão; b) dispositivo intra-oral visto pela face voltada para o palato ilustrando amostras fixadas com cera pegajosa nos nichos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

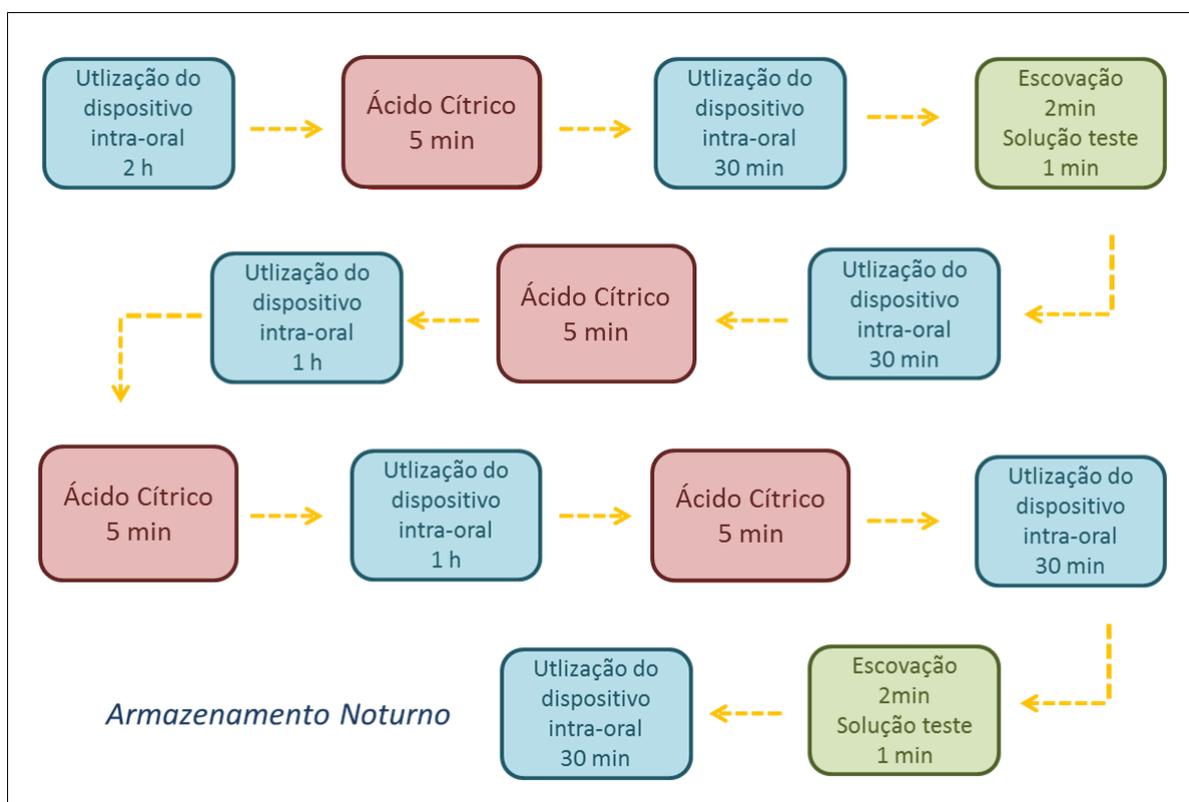
4.6.8 Procedimentos experimentais

Com o objetivo de evitar o contato dos dentes naturais com a solução ácida, os dispositivos contendo os espécimes foram imersos na solução ácida extra

oralmente assim como a abrasão (Wiegand et al., 2010). O desafio erosivo foi realizado com 20 ml da solução ácida, por 5 minutos, 4x/dia, com intervalos de 1 hora entre os desafios sob temperatura ambiente. Para o desafio erosivo, utilizou-se solução de ácido cítrico a 1%, com pH natural (2,3). Após a desmineralização, o excesso de ácido no dispositivo foi vertido sobre um papel absorvente e o dispositivo retornou à boca. A solução ácida foi renovada a cada imersão.

Os voluntários foram orientados a escovar um dos lados do aparelho duas vezes por dia, antes da imersão do mesmo na solução teste, após o primeiro ácido e antes do último de cada ciclo, com o dentifrício fornecido pelos pesquisadores. A abrasão foi realizada por 15 segundos, escovando os espécimes sem qualquer movimento manual adicional, apenas o contato da escova elétrica ativada com os espécimes à serem escovados (Schlueter et al., 2013). A quantidade de dentifrício foi equivalente ao tamanho de uma ervilha na cabeça da escova elétrica. O dentifrício ficou em contato com a amostra por 2 minutos, em seguida enxaguado com água da torneira até a sua completa remoção nas amostras (Schlueter et al., 2013). Os espécimes foram expostos a 20 ml das soluções teste por 1 minuto, 2x/dia, 30 minutos após o primeiro e o último desafio erosivo. Antes do tratamento, os espécimes foram secos com papel absorvente. O excesso das soluções teste após o tratamento também foi vertido sobre papel absorvente. A Figura 20 mostra um esquema do ciclo erosivo experimental e um esquema semelhante, porém mais explicativo foi disponibilizado aos voluntários junto com as instruções (Apêndice A).

Figura 20 – Esquema do ciclo erosivo



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dispositivos foram usados durante o dia (6 h), exceto durante as refeições e durante a higiene oral, quando foram ser armazenados em recipientes com tampa contendo uma gaze umidificada com água deionizada (Ganss et al., 2010). Os voluntários puderam beber somente água com os aparelhos *in situ*. Após as refeições, ingestão de bebidas e higiene oral, os voluntários aguardavam 15 minutos para re inserção do dispositivo na boca.

Durante a noite, os dispositivos foram armazenados nos recipientes com a gaze umidificada e armazenados sob refrigeração a 4°C. A ciclagem dos espécimes foi repetida por 5 dias em cada fase. O tempo de estudo total foi de 15 dias. Um período de *wash out* de 7 dias foi realizado entre as fases do estudo. Após os procedimentos experimentais, os espécimes foram desinfetados em

solução de digluconato de clorexidina 0,2%, pH 6,5 (Viclohex Solução Aquosa, R.T.R. Volante Epp., Taquaritinga – SP, Brasil) por 1 minuto.

4.6.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo software estatístico Statistica for Windows (StatSoft, California, EUA) e consistiu no cálculo da média e desvio-padrão de perda superficial dos espécimes de cada voluntário, medida por perfilometria. A estatística inferencial consistiu no teste de normalidade (Kolmogorov Smirnov) seguido do teste ANOVA dois fatores e teste de comparações múltiplas Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%.

A seguinte hipótese nula foi formulada:

- a) H₀₁: Os tratamentos testados não apresentam efeito protetor contra o desgaste erosivo e erosivo+abrasivo medido por perfilometria comparados ao controle negativo.

5 RESULTADO

Os valores de viscosidade (cP) das soluções experimentais após o ajuste do pH das mesmas para 4,5 estão apresentados na Tabela 1. As soluções não apresentaram valores de viscosidade discrepantes quando comparados ao enxaguatório Elmex, sendo todas aceitáveis clinicamente para utilização como enxaguatórios bucais.

Tabela 1 - Soluções de tratamento testadas com respectivos valores de viscosidade média (DP) após o ajuste de pH para 4,5

Tratamento	Viscosidade cP (25°C)
Elmex	1,20±0,03
NaF	1,00±0,00
NaF+C	1,57±0,04
NaF+Sn	1,07±0,04
NaF+Sn+C	1,12±0,01

Legenda: C – Carbopol.

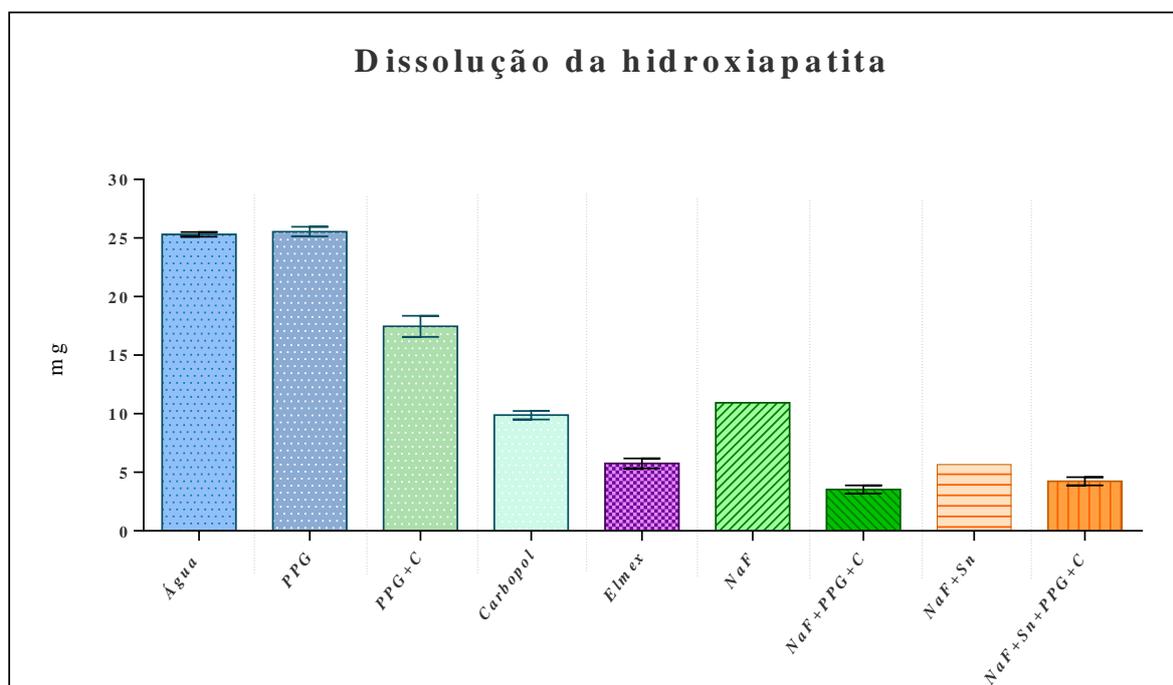
Fonte: Elaborada pelo autor.

5.1 Resultados da Etapa 1

5.1.1 Ensaio de estabilização do pH (*pH stat*)

Para análise estatística do teste de *pH stat* foram utilizadas as médias e desvio-padrão das medidas em triplicata (Figura 21) e os dados encontraram-se em distribuição normal (Kolmogorov Smirnov $p=0,21$).

Figura 21 – Gráfico de colunas representando os valores de média e desvio padrão em mg da dissolução da hidroxiapatita



Legenda: PPG – Propilenoglicol.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados foram submetidos ao teste ANOVA um fator demonstrando diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,0001$) seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey a um nível de significância de 5% (Tabela 3).

Tabela 3 – Dados de média e desvio-padrão do volume de titulante e dissolução de hidroxiapatita para os grupos testados

Tratamento	Volume de titulante (ml)	Dissolução da hidroxiapatita (mg)
Propilenoglicol	2.034 ± 0.032	25.55 ± 0.41 A
Água (controle negativo)	2.016 ± 0.016	25.31 ± 0.20 A
Propilenoglicol+C	1.391 ± 0.070	17.46 ± 0.88 B
NaF	0.872 ± 0.00	10.95 ± 0.00 C
Carbopol	0.786 ± 0.029	9.87 ± 0.36 C
Elmex (controle positivo)	0.459 ± 0.033	5.76 ± 0.42 D
NaF+Sn	0.450 ± 0.00	5.65 ± 0.00 D
C+PPG+NaF+Sn	0.338 ± 0.029	4.24 ± 0.36 E
C+PPG+NaF	0.281 ± 0.028	3.53 ± 0.35 E

Legenda: Letras mostram diferença de dissolução de hidroxiapatita entre os tratamentos ($p<0,05$).
Fonte: Elaborada pelo autor.

O controle negativo apresentou os maiores valores de dissolução da hidroxiapatita, assim como no grupo com propilenoglicol que confirma seu efeito inativo sobre a hidroxiapatita, atuando apenas para dissolução prévia do polímero Carbopol. Os grupos que contém o polímero associado aos fluoretos apresentaram menores valores de dissolução da hidroxiapatita, diferindo até mesmo do grupo controle positivo.

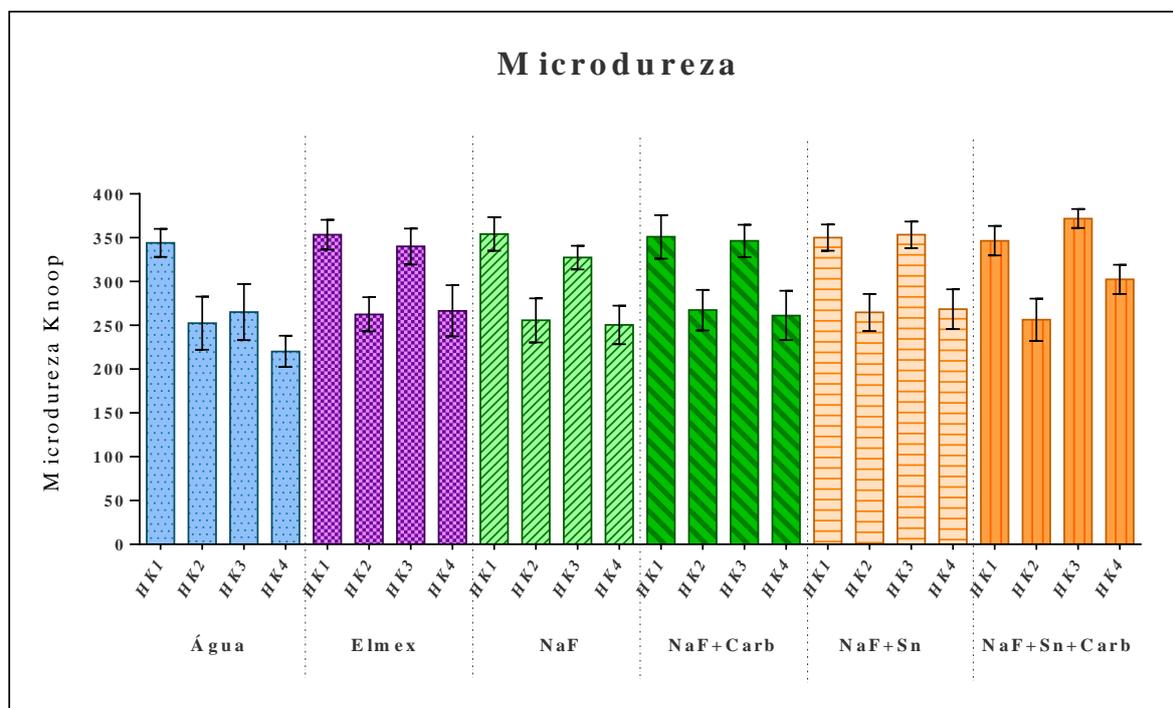
5.1.2 Análise de microdureza

A influência dos tratamentos na erosão inicial foi avaliada por meio da análise de microdureza Knoop. A análise estatística para os dados do ensaio de microdureza foi feita a partir dos valores de média e desvio-padrão dos valores absolutos. Os dados de microdureza inicial (HK_1 – dureza inicial) apresentaram média de 349,92 ($\pm 18,32$) e as amostras selecionadas para o estudo apresentaram variação de até 10% da média (para mais e para menos), como descrito anteriormente. Os dados de microdureza após o primeiro desafio ácido (HK_2 - desmineralização) foram usados como *baseline* e se apresentam na Tabela 2. Os dados de HK_2 foram submetidos ao teste ANOVA um fator, o qual revelou não haver diferença significativa entre os grupos ($p=0,68$) de forma que o estudo partiu da mesma condição de desmineralização para todos os grupos.

Os valores de microdureza foram obtidos em duas fases adicionais: microdureza de remineralização (após tratamento - HK_3), com o objetivo de avaliar o reendurecimento da camada superficial desmineralizada (*softness*); e microdureza de proteção (após segundo desafio erosivo - HK_4), 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 maior ação remineralizante ou maior efeito protetor frente a um novo desafio erosivo das soluções testadas.

Para o efeito remineralizante (HK_3) e protetor (HK_4), os valores de média e desvio-padrão dos dados da microdureza Knoop, segundo os grupos, estão ilustrados na Figura 22, por meio de gráficos de coluna.

Figura 22 – Gráfico de colunas representando os valores de média e desvio padrão das leituras de microdureza nas diferentes condições testadas



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os valores de média e desvio-padrão das medidas de microdureza se apresentaram dentro da condição de normalidade (Kolmogorov Smirnov $p > 0,05$). A avaliação do efeito das soluções na remineralização e proteção do esmalte foi feita por meio de teste ANOVA dois fatores (tratamento e tempo) o qual revelou diferença entre os tratamentos ($p = 0,0001$) e o fator tempo ($p = 0,0001$). O teste de comparações múltiplas adotado foi o Tukey ao nível de significância de 5%. A Tabela 2 mostra os valores de média e desvio-padrão da microdureza e resultados dos testes estatísticos.

Tabela 2 - Média e desvio-padrão dos valores de dureza HK₁ (dureza inicial), HK₂ (desmineralização), HK₃ (remineralização) e HK₄ (proteção) para todos os grupos testados

Tratamento	Dureza inicial (HK ₁)	Desmineralização (HK ₂)	Remineralização (HK ₃)	Proteção (HK ₄)
Água	344,07±16,05Aa	252,54±30,45Ab	265,12±32,04Ab	220,28±17,82Ac
Elmex	353,44±17,10Aa	262,66±19,54Ab	340,14±20,49Ba	266,64±29,16Cb
NaF	354,31±19,23Aa	255,68±25,18Ab	327,42±13,44Ba	250,42±21,93Bb
NaF+C	351,01±24,92Aa	267,35±23,08Ab	346,42±18,56Ba	261,25±28,16Bb
NaF+Sn	350,13±14,97Aa	264,70±21,19Ab	353,41±15,20Ba	268,48±22,65Cb
NaF+Sn+C	346,54±16,81Aa	256,42±24,20Ab	371,96±10,94Cc	302,36±16,67Dd

Legenda: Letras maiúsculas mostram diferença nas colunas e letras minúsculas mostram diferença nas linhas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

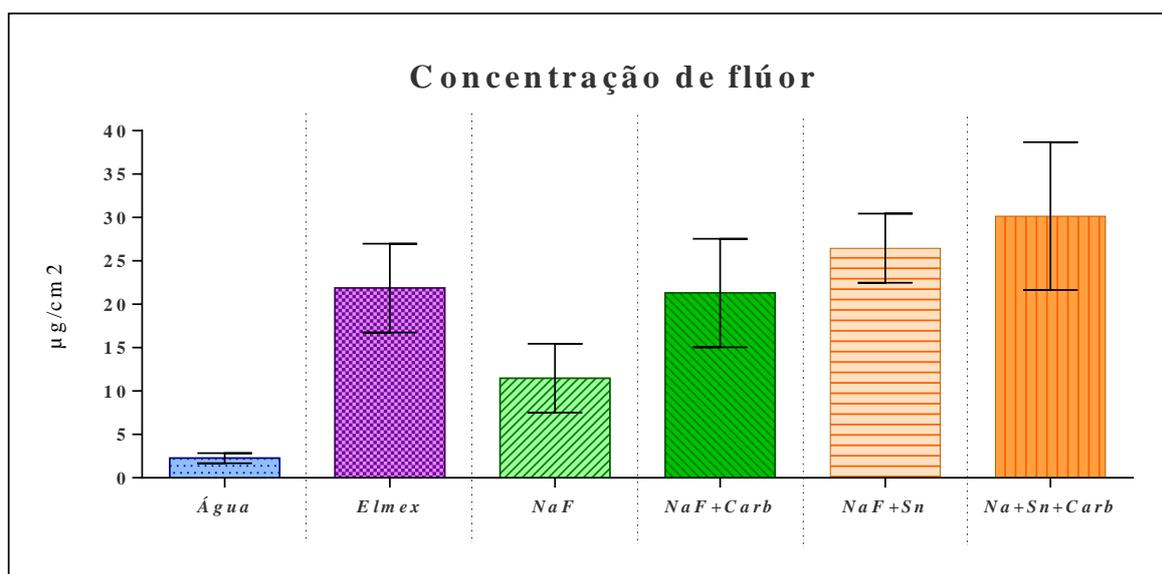
Os valores acima demonstram que a associação do NaF+Sn com o biopolímero Carbopol influenciou no efeito remineralizante, aumentando o valor de microdureza Knoop da camada superficial desmineralizada (*softness*), quando comparado aos demais grupos. Os valores de remineralização, quando comparados aos de desmineralização, demonstram que apenas os grupos tratados com água (controle negativo) não sofreram efeito remineralizante, diferente dos demais, ressaltando-se ainda que o grupo NaF+Sn+C apresentou maior valor de microdureza Knoop.

Para o fator proteção, novamente a associação NaF+Sn+C se diferencia dos demais grupos, apresentando valor significativamente maior de microdureza, demonstrando influência no efeito protetor frente a um novo desafio erosivo após tratamento.

5.1.3 Análise da concentração de flúor

Para avaliação da influência das soluções experimentais na adsorção de flúor na superfície do esmalte, foi realizada a mensuração do flúor solúvel em KOH (*loosely bound fluoride*). Os dados obtidos pela análise se encontraram dentro da condição de normalidade (Kolmogorov Smirnov $p=0,12$). Para a concentração de flúor solúvel em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, os valores de média e desvio-padrão dos dados, segundo os grupos, estão ilustrados na Figura 23, por meio de gráficos de coluna.

Figura 23 - Gráfico de colunas representando os valores de média e desvio padrão de flúor solúvel em KOH ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados foram então submetidos ao teste ANOVA um fator ($p=0,0001$) seguido pelo teste de comparações múltiplas Tukey ao nível de significância de 5% (Tabela 4). Observou-se diferença estatística entre os tratamentos e o grupo controle negativo, a associação do polímero Carbopol à solução de NaF aumentou a adsorção de flúor ao esmalte erodido e para o tratamento com NaF+Sn+Carbopol.

Tabela 4 – Média e desvio padrão do flúor adsorvido no esmalte (em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e resultado do teste de Tukey

Tratamento	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$
Água (controle negativo)	2,27±0,57 A
NaF	11,48±3,97 B
NaF+Carbopol	21,30±6,24 C
Elmex (controle positivo)	21,86±5,12 C
NaF+Sn	26,46±3,97 CD
NaF+Sn+Carbopol	30,15±8,51 D

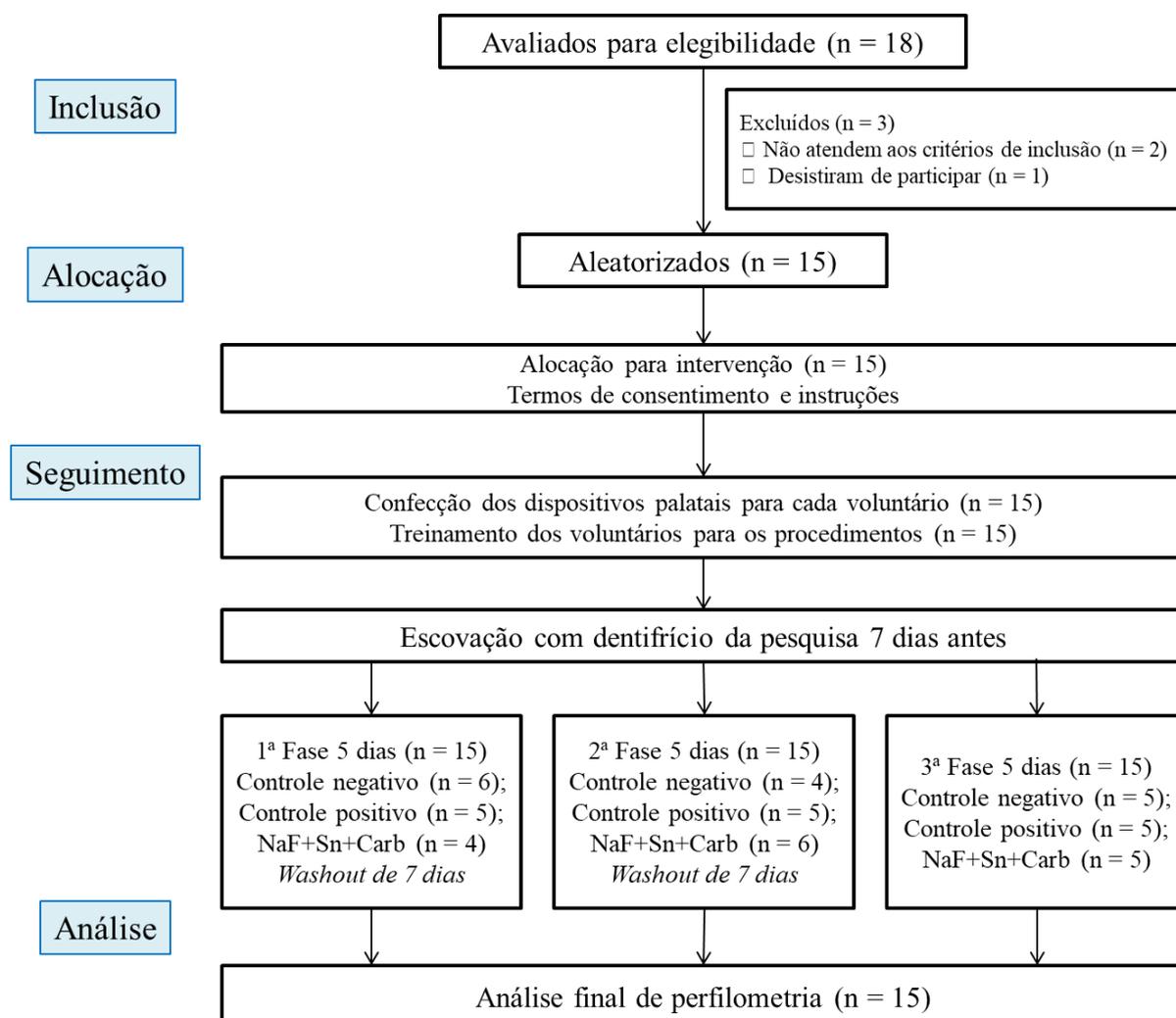
Legenda: Letras mostram diferença entre os tratamentos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2 Resultados da Etapa 2

Por se tratar de um estudo cruzado e aleatorizado foi feito um fluxograma, seguindo as normas do CONSORT (Martins et al., 2009), projetado para documentar o fluxo de registros de participantes do ensaio, seguindo os critérios de inclusão e aleatorização dos voluntários (Figura 24).

Figura 24 – Fluxograma CONSORT do recrutamento e aleatorização dos voluntários do estudo



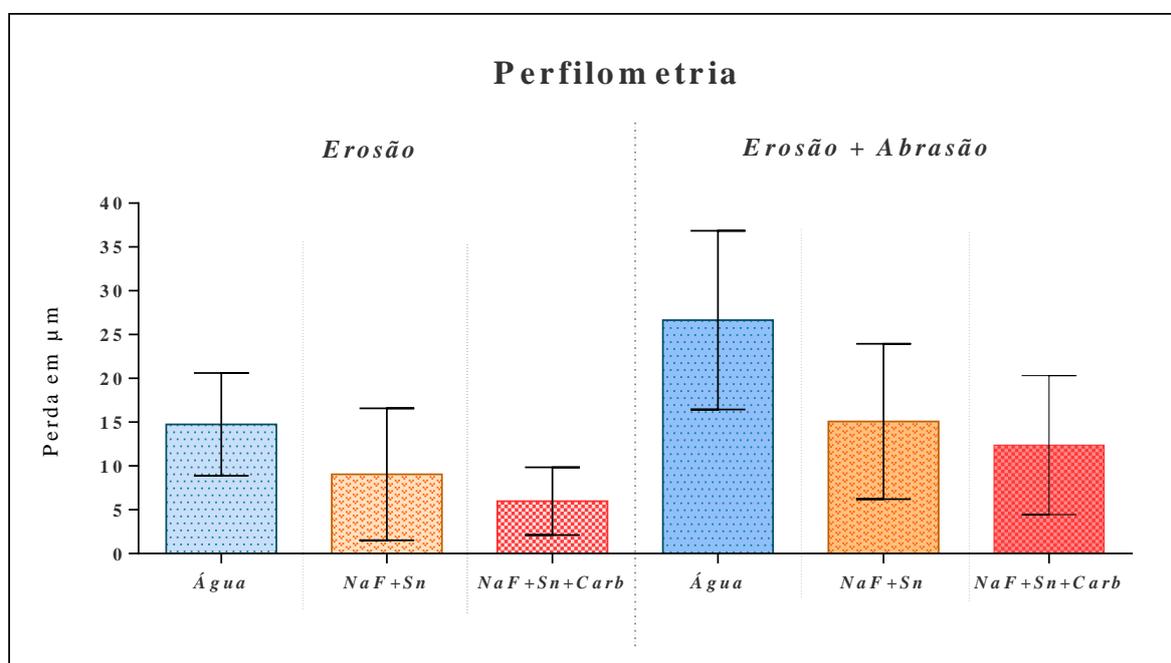
Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2.1 Análise de perfilometria

Para avaliação da influência das soluções na progressão da erosão foi realizado o teste de perfilometria após o ciclo erosivo descrito na metodologia. Os dados de perda de esmalte se apresentaram dentro da condição de normalidade (teste de Kolmogorov Smirnov $p=0,12$). Os valores de média e desvio-padrão da

análise de perfilometria, segundo os grupos de tratamento, estão ilustrados na Figura 25 por meio de um gráfico de coluna.

Figura 25 – Gráfico de colunas representando valores de média e desvio-padrão de desgaste em μm segundo os grupos de acordo com associação ou não da erosão com a escovação



Fonte: Elaborada pelo autor.

A avaliação do efeito protetor das soluções contra o desgaste erosivo e erosivo+abrasivo medido por perfilometria foi feita por meio de teste ANOVA dois fatores (desafio e tratamento), o qual revelou diferença estatisticamente significativa entre os desafios ($p=0.0001$) mostrados na Tabela 5. O teste de comparações múltiplas adotado foi o Tukey ao nível de significância de 5%.

Tabela 5 – Média e desvio-padrão dos dados obtidos na análise perfilométrica (μm) da superfície do esmalte para os desafios

Desafio	Perda superficial (μm)
Erosão	9,93 \pm 6,88 A
Erosão + Abrasão	18,04 \pm 10,83 B

Legenda: Letras mostram diferença entre os desafios ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Também houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos quando comparados ao grupo controle ($p = 0,0001$) mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Média e desvio-padrão dos dados obtidos na análise perfilométrica (μm) da superfície do esmalte para os tratamentos testados

Tratamentos	Perda em μm
Água	20,70 \pm 10,17 A
NaF+Sn	12,07 \pm 8,65 B
NaF+Sn+C	9,18 \pm 6,94 B

Legenda: Letras mostram diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pelo autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 Estudo *in vitro*

O polímero testado neste estudo é comumente utilizado na indústria farmacêutica, atuando como espessante, modificador da reologia dos materiais e como agente bioadesivo, funcionando como um veículo de entrega. Sua biocompatibilidade e propriedade bioadesiva são bem reconhecidas (Zaman et al., 2008, 2010) e é produto da interação com superfícies biológicas, decorrente das ligações de hidrogênio de seus grupos carboxila ionizados (Moustafa et al., 2018). Na odontologia também é empregado principalmente na composição de cremes dentais e géis, dessensibilizantes e clareadores. O efeito desse polímero como ingrediente ativo de produtos para prevenção da erosão e a possível interação dele com o fluoreto de sódio foi testado previamente por Ávila et al. (2017) com resultados promissores.

Sabe-se que o fluoreto de sódio apresenta ação protetora contra o desafio erosivo, no entanto, este efeito é limitado (Ganss et al., 2004; Zero, 2006). Assim, sua associação com polímero Carbopol, que apresenta propriedades bioadesivas seria uma forma de potencializar seu efeito protetor e, portanto, seus efeitos benéficos sobre a erosão dental. Como já mencionado anteriormente, acredita-se que o principal mecanismo protetor dos fluoretos monovalentes contra a erosão seja por meio da formação de depósitos do tipo fluoreto de cálcio na superfície do esmalte, dependentes de sua concentração, tempo de aplicação e pH (Petzold, 2001). 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 associadas ao Carbopol.

Neste estudo foram utilizadas formulações de soluções fluoretadas, usadas como enxaguatório bucal, e suas associações ao polímero Carbopol. Para as associações, o polímero Carbopol foi previamente umidificado e dissolvido em outro polímero, o propilenoglicol ($C_3H_8O_2$). Nas soluções com fluoreto de sódio, o Carbopol se dissolve completamente em meio aquoso, e até mesmo quando o pH é ajustado para 4,5 (com KOH 1M) a solução se mantém estável. Quando associado ao fluoreto de sódio + cloreto de estanho, o Carbopol geleifica a solução, aumentando sua viscosidade, e sendo inviável sua utilização como enxaguatório. Acredita-se em uma possível ligação de grupos carregados negativamente do polímero com os grupos ácidos da solução. Sendo assim o propilenoglicol funcionaria como um doador de íons hidrogênio na presença do Carbopol, levando ao desdobramento do polímero (Zaman et al., 2010).

O uso de uma base hidrofílica não aquosa permite que níveis muito mais elevados de polímeros hidrofílicos sejam incorporados, à medida que seu comportamento de geleificação é parcialmente suprimido, e a capacidade de absorção de água aumenta (Zaman et al., 2010). Qualquer dissolução em sistemas hidrofílicos não aquosos é proporcionada, principalmente, pela presença de políeis (Zaman et al., 2010), tais como o propilenoglicol. A dissolução do polímero Carbopol em propilenoglicol também é possível devido ao fato de que esta substância é polar, assim como a água, o que permite tanto a dissolução do polímero quanto sua utilização nas soluções testadas.

O teste de estabilidade do pH (*pH stat*), foi empregado para testar o potencial protetor dos componentes, isolados ou associados, quanto à dissolução da hidroxiapatita. Os resultados da análise da estabilidade de pH permitem negar a primeira hipótese, pois a associação do polímero Carbopol 980 às diferentes

formulações de fluoreto influenciaram a quantidade de dissolução da hidroxiapatita. Ao analisar os componentes isolados, observa-se que o propilenoglicol apresentou comportamento semelhante ao grupo da água (controle negativo), ou seja, não expressou interferência no efeito do polímero Carbopol nas soluções fluoretadas. Portanto, o propilenoglicol funcionou apenas como um umidificante para o polímero.

A hidroxiapatita tratada com Elmex e com NaF+Sn apresentaram valores significantes para redução da dissolução da hidroxiapatita (77,25% e 77,67%, respectivamente). Mas ainda sim, os grupos com associação de fluoreto com Carbopol apresentaram valores significativamente menores de dissolução da hidroxiapatita, se comparado aos demais grupos. Houve redução de 86,05% para NaF+Carbopol e 83,24% para o grupo NaF+Sn+Carbopol.

A formulação de soluções fluoretadas (NaF e NaF+Sn) associadas ao polímero Carbopol só é possível pelas características de polaridade das substâncias, considerando-se a quantidade de polímero utilizado e da faixa de pH empregada. Quando hidratado, o Carbopol apresenta muitos centros de carga negativos; neste estado a molécula se “estica”, a partir daí ocorre um aumento de resistência mecânica na direção do estiramento. O grau de orientação necessário para atingir determinada propriedade depende basicamente da energia coesiva do sistema (forças intermoleculares). Estas forças intermoleculares estão diretamente ligadas à afinidade do polímero Carbopol pelo Ca^{2+} . Tal afinidade permite a formação de um filme sobre a superfície dental, conferindo à mesma um efeito protetor contra a desmineralização, pois este filme funcionaria como uma barreira física frente ao desafio erosivo. Para Barbour et al. (2005), esta barreira poderia inibir a dissolução da superfície da hidroxiapatita e assim, reduzir a difusão de íons hidrogênio e de cálcio e fosfato entre a hidroxiapatita e a solução ácida. Além do mais, a hidroxiapatita possui carga superficial positiva ou próxima à neutra em

pH neutro. Em baixo pH, a carga positiva da hidroxiapatita aumenta, e isso pode ser significativo na adesão do polímero (Barbour et al., 2005).

Após verificado o potencial protetor das soluções testadas, simulou-se o emprego das mesmas em um processo inicial da erosão, caracterizado pelo amolecimento da superfície do esmalte (*softening*). Durante esta fase o processo é considerado reversível, pois a perda de estrutura mineral do esmalte é parcial, permitindo uma possível mineralização pela saliva (Amaechi, Higham, 2001) ou por agentes remineralizantes (Ganss et al., 2011). Para a ciclagem, foi utilizada a saliva humana, na tentativa de simular a presença da película adquirida sobre a superfície de esmalte e avaliar a interação da mesma com os agentes formadores de filme (White et al., 2012). Como na situação clínica as superfícies dentárias estão recobertas pela película adquirida, a presença desta no estudo contribui para um melhor entendimento da interação entre os agentes formadores de filme e o dente.

As alterações iniciais da estrutura dental submetida a agentes erosivos 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 indentações (Barbour et al., 2005). Acredita-se que a ponta de diamante Knoop seja mais sensível para detectar as mudanças na camada mais superficial de uma lesão erosiva, pois sua profundidade de penetração é em torno de 1,5 μm (Ganss et al., 2011). Com o transcorrer do desafio erosivo, esta camada amolecida superficial atinge um estágio estável ou é removida, tornando-se inadequado este método de avaliação (Shellis et al., 2011). De acordo com esta metodologia, na erosão inicial, foram testadas duas condições distintas: potencial de remineralização e proteção. Na primeira, procurou-se avaliar a capacidade das soluções testadas em promover o reendurecimento da camada de *softening* (após primeira imersão em ácido – HK2). Estudos prévios indicam que a exposição a soluções com fluoretos leva à remineralização da estrutura dental amolecida

(Amaechi, Higham, 2001; Ganss et al., 2001). Para a segunda condição buscou-se avaliar o potencial protetor das soluções frente a um novo desafio erosivo, pela possível formação de precipitados fluoretados que impediriam o contato do ácido com o tecido amolecido (Petzold, 2001). As indentações iniciais permaneceram visíveis ao microscópio mesmo na última leitura de microdureza, indicando que não houve perda de estrutura significativa neste estágio do experimento.

O ensaio de microdureza permitiu negar a segunda hipótese nula, pois a associação do polímero Carbopol 980 a soluções fluoretadas influenciaram o efeito protetor ao esmalte na erosão inicial. Nas condições de remineralização, todas as soluções foram capazes de promover um endurecimento da camada de *softening* aumentando os valores de microdureza se comparados ao baseline (HK2) com exceção do grupo tratado com água, como já esperado. Entre os grupos testados com as soluções experimentais, destacou-se o potencial remineralizante para o grupo NaF+Sn+Carbopol, apresentando valores significativamente maiores de microdureza. Houve um aumento de 40% na dureza de remineralização para o grupo NaF+Sn+Carbopol e de 28% para o grupo tratado com Elmex, quando comparados ao controle negativo. Nas condições de proteção também se observou um potencial protetor significativo frente a um novo desafio erosivo, quando comparados ao grupo água. Os grupos tratados com Elmex e com NaF+Sn foram semelhantes, uma vez que possuem a mesma composição de fluoretos, já se esperava um efeito semelhante. O grupo tratado com Elmex aumentou o potencial de proteção em 20% e o grupo NaF+Sn, em 21% a mais que o grupo controle negativo. Já a associação NaF+Sn+Carbopol mais uma vez mostrou valores significativamente maiores, se destacando com maior potencial protetor se comparado aos demais grupos (aumento de 37%). Os resultados obtidos com a análise de microdureza corroboram com os obtidos no teste de pH *stat*, esta diferença entre os grupos mostra que, não somente a presença do polímero exerceu efeito sobre o potencial de remineralização, como também o

tipo de fluoreto associado a ele. Apesar de se notar que a carga na superfície do esmalte pode ser diferente daquela na hidroxiapatita (Barbour et al., 2005), o efeito da carga na adsorção das moléculas aos tecidos duros (nos espécimes), parece ter sido o mesmo.

Muitas investigações já demonstraram o efeito superior de soluções contendo associação entre fluoreto e estanho na prevenção de erosão, em relação a soluções contendo somente fluoreto de sódio (Ganss et al., 2008; Wiegand et al., 2009; Strand, 2011; Hara et al., 2013; Huysmans et al., 2014; de Oliveira et al., 2015; Pini et al., 2017). Estes resultados corroboram com os obtidos neste estudo. A terceira hipótese também foi negada, pois a adsorção de íons fluoretos à superfície do esmalte foi maior nos grupos fluoretados. Diferente do grupo controle negativo, as soluções experimentais apresentaram adsorção de íons flúor na superfície. Os grupos Elmex e NaF+Sn apresentaram valores de adsorção semelhantes, assim como esperado, uma vez que são compostos pela mesma formulação de fluoreto. Já o grupo NaF+Sn+Carbopol apresentou valores ainda maiores de adsorção de íons flúor.

Especula-se que haja um efeito sinérgico entre o Carbopol e o flúor, pois como ambas são moléculas aniônicas, não tendem a se unir quimicamente e, portanto, não favorece o esperado efeito de substantividade, encontrado nas formulações de fármacos. O efeito protetor da solução NaF+Sn associada ao Carbopol pode ser explicado pela formação de um filme sobre a superfície, proveniente de todas as interações descritas anteriormente. O Carbopol apresenta peso molecular muito alto (~500.000), comparado ao do fluoreto de sódio (41,99) e ao cloreto de estanho (208,59), facilitando assim sua precipitação na superfície e, conseqüentemente, dificultando sua remoção pelo ácido cítrico. Já o potencial remineralizante e a adsorção de flúor na superfície podem estar relacionados a uma ação física do Carbopol em aprisionar os íons flúor próximo à superfície, por se tratar de uma molécula de alto peso molecular.

Há de se considerar ainda a presença e a bipolaridade da película adquirida simulada neste estudo. Tal característica dual da película permite que os agentes exerçam influência sobre a formação da mesma por meio de interações com as proteínas polares, potencializando ainda mais seu efeito protetor (Hannig et al., 2017). A adsorção de biomoléculas e proteínas salivares específicas é, até certo ponto, determinada pelas propriedades físico-químicas do substrato, tais como a polaridade da superfície, a molhabilidade e a expressão dos potenciais receptores (Hannig et al., 2017). A película adquirida é um subconjunto específico de biomoléculas salivares que se ligam fortemente à superfície iônica dos dentes para manter uma alta concentração de cálcio diretamente ao redor do dente (Hannig et al., 2017). As proteínas salivares serão adsorvidas principalmente na superfície do esmalte, devido às interações eletrostáticas entre este e os grupos carregados das proteínas (Bennick et al., 1979; Zhang et al., 2018). A adsorção de uma película salivar altera a energia superficial do substrato e a natureza das ligações químicas disponíveis para interação com as diferentes soluções (Zaman et al., 2010). Por outro lado, o tratamento da superfície do esmalte pode também alterar o potencial de adsorção de proteínas sobre a mesma. Foi demonstrado previamente que a película formada sobre superfícies tratadas com SnF₂ apresentou maior espessura do que sobre as tratadas com NaF (Rykke et al., 1991).

Tendo em vista os resultados promissores obtidos, optou-se em utilizar as soluções NaF+Sn e NaF+Sn+Carbopol em um modelo *in situ*, próxima etapa deste estudo. Além do mais, a formação da película adquirida *in vivo* simula situações mais próximas da realidade clínica.

6.2 Estudo *in situ*

Este estudo foi realizado para confirmar o efeito anti-erosivo de soluções fluoretadas associadas ao Sn e ao polímero Carbopol, previamente encontrado *in vitro*, utilizando um modelo mais próximo da condição *in vivo*. 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, 2006). Neste estudo, a análise perfilométrica por contato foi realizada, com objetivo de quantificar a perda do esmalte dental. As mensurações realizadas basearam-se no apalpamento de uma ponta diamantada, previamente montada no equipamento Perfilômetro. 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, tendo-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 relacionada ao resultado mais fiel da análise, assim como o uso de software apropriado para a mensuração. Portanto, esta análise foi possível devido ao fato de que os espécimes foram reposicionados exatamente no mesmo local em todas as mensurações.

Os resultados obtidos com relação ao desgaste, por meio da análise perfilométrica não mostraram diferença significativa entre os grupos fluoretados, mas estes foram diferentes da água (controle negativo). É interessante notar que houve uma redução na perda do esmalte de 40% para o grupo NaF+Sn e de 55% para o grupo NaF+Sn+Carbopol quando se comparam as soluções de tratamento. Assim, a associação do polímero à solução fluoretada apresentou uma sutil diferença na redução do desgaste erosivo, apesar de não haver diferença estatística. Quando se compara apenas os desafios (erosão e erosão+abrasão),

houve diferença significativa entre os mesmos, com 50% a menos de perda nas amostras que sofreram apenas erosão, ou seja, quando os grupos são submetidos à erosão+abrasão a perda de esmalte se torna mais expressiva, independente das soluções testadas.

A película adquirida formada *in vitro* difere da *in situ* porque, entre outras alterações, as proteínas salivares coletadas podem sofrer alteração ou degradação (Batista et al., 2016). A película formada naturalmente pode apresentar diferentes níveis estruturais e de maturação, tendo uma influência diferente na ligação dos componentes, que constituem as soluções, ao esmalte e subsequente efeito protetor. Para permitir a formação da película e sua maturação, no presente estudo *in situ*, os voluntários usaram os dispositivos orais por duas horas antes dos procedimentos experimentais (João-Souza et al., 2017).

A solução de fluoreto contendo estanho mostrou efeito protetor contra o desgaste erosivo neste estudo corroborando com investigações anteriores (Ganss et al., 2010; Schlueter et al., 2010; João-Souza et al., 2017). Seu mecanismo de ação é devido à formação de precipitados na superfície dental, como $\text{Ca}(\text{SnF}_3)_2$, SnOHPO_4 , $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$, que são mais resistentes ao ácido do que as partículas de CaF_2 induzidas pela utilização de NaF (Ganss et al., 2010). Mas há que se levar em consideração o pH das soluções utilizadas. Provavelmente, o baixo pH (4,5) e concentração de flúor utilizada podem ter levado à formação de depósitos semelhantes ao CaF_2 . O pH de 4,5 foi padronizado para as soluções fluoretadas para evitar um fator confundidor, além de facilitar a formação de CaF_2 . Adicionalmente, as soluções fluoretadas associadas ao Sn não são estáveis em níveis altos de pH (Scaramucci et al., 2016) e o baixo pH facilita a manutenção da viscosidade apropriada para a solução contendo carbopol.

Deve-se considerar como limitação do estudo, o protocolo de tratamento, visto que alguns estudos *in situ* preconizam que o desafio erosivo e os tratamentos sejam realizados intraoralmente, devido à natureza experimental das

soluções testadas (João-Souza et al., 2017). A exposição intraoral aos exaguatórios fluoretados pode permitir que mais locais sejam encontrados para a retenção de flúor, como os tecidos orais, que poderiam aumentar, potencialmente, a disponibilidade de flúor (Zero et al., 1992). Além disso, quando o bochecho é realizado intraoral, pode levar à interação do flúor com o cálcio da saliva, permitindo a formação de mais material semelhante ao CaF_2 . O modelo *in situ* utilizou condições altamente erosivas, com sucessivos episódios de exposição ao ácido e sem exposição à saliva durante a noite. Essa condição experimental poderia ter minimizado a ação de aprimoramento da remineralização das soluções de teste, o que também poderia explicar a proteção reduzida observada pela solução flúor (João-Souza et al., 2017).

Sabe-se que a película adquirida é importante na avaliação de agentes formadores de filme, devido à possibilidade de competição por sítios de ligação na superfície do esmalte (Barbour et al., 2005). O efeito protetor da solução $\text{NaF}+\text{Sn}$ associada ao Carbopol pode ser explicado pela formação de um filme sobre a superfície. Esta formação de um filme protetor está relacionada à forças intermoleculares e estão diretamente ligadas à afinidade do polímero Carbopol pelo Ca^{2+} . Tal afinidade confere à superfície um efeito protetor contra a desmineralização, pois este filme funcionaria como uma barreira física frente ao desafio erosivo. Tal proteção também é observada quando a amostra é submetida à abrasão. Para Rykke et al. (1991) o aumento da espessura da película formada sobre o esmalte tem alguma influência sobre o efeito protetor, assim como a influência do tratamento com fluoretos na formação e composição da película. Pode se atribuir a este fato, a diminuição de proteção quando as amostras foram submetidas à abrasão, pois inevitavelmente pode haver uma diminuição da espessura da película adquirida ou até mesmo sua remoção em alguns sítios, quando a superfície foi escovada.

Com base nos resultados, pode-se concluir que ambas as soluções de flúor apresentaram efeito protetor estatisticamente semelhante contra o desgaste dentário, independentemente do desafio (erosão ou erosão mais abrasão). Os resultados do presente estudo provaram que as soluções fluoretadas associadas ao Sn e ao polímero Carbopol são capazes de reduzir o desgaste erosivo em esmalte também sob condições clínicas mais relevantes, com exposição frequente à erosão. Embora os precipitados na superfície formados após a aplicação das soluções de tratamento, tenham resistido às forças abrasivas em alguma medida (Wiegand et al., 2010), a escovação diminuiu a eficácia protetora das soluções NaF+Sn e NaF+Sn+Carbopol em comparação aos grupos que foram somente erodidos, portanto, este é um desafio ainda a ser alcançado. Assim, estudos futuros devem ser conduzidos a fim de testar novas concentrações tanto para o polímero Carbopol quanto para as formulações de fluoreto, bem como se o efeito protetor encontrado no esmalte prevalece sobre a dentina.

7 CONCLUSÃO

7.1 Etapa 1: Estudo *in vitro*

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

- a) Soluções fluoretadas associadas ao polímero reduziram significativamente a dissolução da hidroxiapatita comparados aos grupos controle (positivo e negativo);
- b) Os tratamentos apresentaram potencial remineralizante e protetor na superfície do esmalte significativamente maior do que o grupo tratado com água, sendo que o grupo NaF+Sn+Carb apresentou valores maiores que os demais grupos;
- c) A associação do polímero Carbopol às soluções fluoretadas aumentou a adsorção de flúor à superfície do esmalte erodido quando comparado ao grupo NaF e controle negativo.

7.2 Etapa 2: Estudo *in situ*

De acordo com a hipótese testada, conclui-se que os tratamentos utilizados reduziram o desgaste erosivo em ambos desafios quando comparados ao controle negativo.

REFERÊNCIAS*

Aivazoglou MU. Influência de soluções de armazenamento, métodos de esterilização e suas associações sobre a microdureza dentinária radicular em dentes humanos: estudo in vitro [dissertação]. São José dos Camps (SP):Universidade Estadual Paulista (Unesp); Faculdade de Odontologia de São José dos Campos; 2009.

Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent.* 2001 Jul;29(5):371-6. Pubmed PMID: 11472810

Amjad Z. Calcium phosphates in biological and industrial systems. New York; Springer Science & Business Media; 2013.

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 Dec 01;13(4):473-8. doi: 10.1007/s00784-009-0253-9. Pubmed PMID: 19214602.

Attin T, Wegehaupt FJ. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014 Jun 26;25:123-42. doi: 10.1159/000360355 Pubmed PMID: 24993262

Ávila D, Zanatta R, Scaramucci T, Aoki I, Torres C, Borges A. Influence of bioadhesive polymers on the protective effect of fluoride against erosion. *J Dent.* 2017 Jan;56:45-52. doi: 10.1016/j.jdent.2016.10.015. Pubmed PMID: 27793704

Babcock F, King J, Jordan T. The reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite. *J Dent Res.* 1978;57(9-10):933-8. doi: 10.1177/00220345780570092301 Pubmed PMID: 281374

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 Dec;113(6):457-61. doi: 10.1111/j.1600-0722.2005.00248.x Pubmed PMID: 16324134

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.

Bardow A, Nyvad B, Nauntofte B. Relationships between medication intake, complaints of dry mouth, salivary flow rate and composition, and the rate of

*Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

tooth demineralization in situ. *Arch Oral Biol.* 2001 May;46(5):413-23. Pubmed PMID: 11286806

Batista G, Torres C, Sener B, Attin T, Wiegand A. Artificial saliva formulations versus human saliva pretreatment in dental erosion experiments. *Caries Res.* 2016;50(1):78-86. doi: 10.1159/000443188 Pubmed PMID: 26870948

Bennick A, Cannon M, Madapallimattam G. The nature of the hydroxyapatite-binding site in salivary acidic proline-rich proteins. *Biochem J.* 1979;183(1):115-26. doi: 10.1042/bj1830115 Pubmed PMID: 230818

Beyer M, Reichert J, Heurich E, Jandt KD, Sigusch BW. Pectin, alginate and gum arabic polymers reduce citric acid erosion effects on human enamel. *Dent Mater.* 2010 Sep;26(9):831-9. doi: 10.1016/j.dental.2010.04.008 Pubmed PMID: 20569976

Beyer M, Reichert J, Sigusch BW, Watts DC, Jandt KD. Morphology and structure of polymer layers protecting dental enamel against erosion. *Dent Mater.* 2012 Oct;28(10):1089-97. doi: 10.1016/j.dental.2012.07.003 Pubmed PMID: 22883479

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. doi: 10.1155/2012/347848 Pubmed PMID: 23193404

Büyükyılmaz T, Ogaard B, Rølla G. The resistance of titanium tetrafluoride treated human enamel to strong hydrochloric acid. *Eur J Oral Sci.* 1997 Oct;105(5):473-7. Pubmed PMID: 9395112

Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012 Sep-Oct;20(5):493-502. Pubmed PMID: 23138733

Buzalaf MA, Magalhaes AC, Wiegand A. Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:244-52. doi: 10.1159/000360557 Pubmed PMID: 24993272

Carvalho T, Baumann T, Lussi A. In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion. *Clin Oral Investig.* 2016 Nov 01;20(8):1973-9. doi: 10.1007/s00784-015-1703-1 Pubmed PMID: 26800668

Caslavska V, Moreno EC, Brudevold F. Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol.* 1975 May-Jun;20(5-6):333-9. Pubmed PMID: 168845

Cassiano LPS, Ventura TMS, Silva CMS, Leite AL, Magalhães AC, Pessan JP, et al. Protein profile of the acquired enamel pellicle after rinsing with whole milk, fat-free milk, and water: an in vivo study. *Caries Res.* 2018;52(4):288-96. Pubmed PMID:

Cheng ZJ, Wang XM, Cui F, Ge J, Yan J. The enamel softening and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation. *Biomed Mater.* 2009 Feb;4(1):015020. doi: 10.1088/1748-6041/4/1/015020 Pubmed PMID: 19193971

Christensen CM, Navazesh M. Anticipatory salivary flow to the sight of different foods. *Appetite.* 1984 Dec;5(4):307-15. Pubmed PMID: 6529259

Churchley D, Rees GD, Barbu E, Nevell TG, Tsibouklis J. Fluoropolymers as low-surface-energy tooth coatings for oral care. *Int J Pharm.* 2008 Mar 20;352(1):44-9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.10.024 Pubmed PMID: 18063491

Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc.* 2008 May;139 Suppl:18S-24S. Pubmed PMID: 18460676

de Oliveira TA, Scaramucci T, Nogueira FN, Simoes A, Sobral MA. Effect of mouthrinses with different active agents in the prevention of initial dental erosion. *Indian J Dent Res.* 2015 Sep-Oct;26(5):508-13. doi: 10.4103/0970-9290.172052 Pubmed PMID: 26672422

Eisenburger M, Hughes J, West NX, Jandt KD, Addy M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid erosion. *Caries Res.* 2000 Jul-Aug;34(4):289-94. doi: 16604 Pubmed PMID: 10867430

Faller R, Noble W. Protection from dental erosion: all fluorides are not equal. *Compend Contin Educ Dent.* 2018; e13-e7.

Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:66-76. doi: 10.1159/000093351 Pubmed PMID: 16687885

Gandara B, 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.* 2006;20:9-16. doi: 10.1159/000093344 Pubmed PMID: 16687881

Ganss C, Hardt M, Lussi A, Cocks A, Klimek J, Schlueter N. Mechanism of action of tin containing fluoride solutions as anti-erosive agents in dentine an in vitro tin uptake, tissue loss, and scanning electron microscopy study. *European*

journal of oral sciences. 2010;118(4):376-84. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00742.x Pubmed PMID: 20662911

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 Nov-Dec;38(6):561-6. doi: 10.1159/000080587 Pubmed PMID: 15528912

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 Sep-Oct;35(5):325-30. doi: 47470 Pubmed PMID: 11641567

Ganss C, Lussi A. Diagnosis of erosive tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:22-31. doi: 10.1159/000359935 Pubmed PMID: 24993255

Ganss C, Lussi A. Diagnosis of erosive tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:32-43. doi: 10.1159/000093349 Pubmed PMID: 16687883

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. doi: 10.1159/000334318 Pubmed PMID: 22156703

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 May-Jun;39(3):178-84. doi: 10.1159/000084795 Pubmed PMID: 15914978

Ganss C, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion. *J Dent Res.* 2010 Nov;89(11):1214-8. doi: 10.1177/0022034510375291 Pubmed PMID: 20581352

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. doi: 10.1159/000111743 Pubmed PMID: 18042984

Ganss C, von Hinckeldey J, Tolle A, Schulze K, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of the stannous ion and a biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. *J Dent.* 2012 Dec;40(12):1036-43. doi: 10.1016/j.jdent.2012.08.005 Pubmed PMID: 22917561

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 Nov;38 Suppl 3:S4-11. doi: 10.1016/S0300-5712(11)70003-3 Pubmed PMID: 21256404

Graubart J, Gedalia I, Pisanti S. Effects of fluoride pretreatment in vitro on human teeth exposed to citrus juice. *J Dent Res.* 1972 Nov-Dec;51(6):1677. doi: 10.1177/00220345720510063301 Pubmed PMID: 4508982

Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci.* 2005 Feb;113(1):2-13. doi: 10.1111/j.1600-0722.2004.00180.x Pubmed PMID: 15693823

Hannig C, Hannig M, Kensche A, Carpenter G. The mucosal pellicle – An underestimated factor in oral physiology. *Arch Oral Biol.* 2017;80:144-52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.04.001> Pubmed PMID: 28419912

Hannig M, Balz M. Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. *Caries Res.* 2001 Mar-Apr;35(2):142-8. doi: 47446 Pubmed PMID: 11275675

Hannig M, Hannig C. The pellicle and erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:206-14. doi: 10.1159/000360376 Pubmed PMID: 24993268

Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci.* 2006;19:29-64. doi: 10.1159/000090585 Pubmed PMID: 16374028

Hara AT, Barlow AP, Eckert GJ, Zero DT. Novel in-situ longitudinal model for the study of dentifrices on dental erosion-abrasion. *Eur J Oral Sci.* 2014 Apr;122(2):161-7. doi: 10.1111/eos.12108 Pubmed PMID: 24372921

Hara AT, Lippert F, Zero DT. Interplay between Experimental Dental Pellicles and Stannous-Containing Toothpaste on Dental Erosion-Abrasion. *Caries Res.* 2013 Mar 7;47(4):325-9. doi: 10.1159/000347051 Pubmed PMID: 23486168

Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:88-99. doi: 10.1159/000093355 Pubmed PMID: 16687887

Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:197-205. doi: 10.1159/000360372 Pubmed PMID: 24993267

Hemingway CA, White AJ, Shellis RP, Addy M, Parker DM, Barbour ME. Enamel erosion in dietary acids: inhibition by food proteins in vitro. *Caries Res.* 2010;44(6):525-30. doi: 10.1159/000320984 Pubmed PMID: 20980757

- Hicks J, Flaitz C. Role of remineralizing fluid in in vitro enamel caries formation and progression. *Quintessence Int.* 2007; 38(4): 313-9. Pubmed PMID: 17432787.
- Hooper S, Hughes J, Parker D, Finke M, Newcombe RG, Addy M, et al. A clinical study in situ to assess the effect of a food approved polymer on the erosion potential of drinks. *J Dent.* 2007 Jun;35(6):541-6. doi: 10.1016/j.jdent.2007.03.001 Pubmed PMID: 17459557
- Hove L, Holme B, Ogaard 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. doi: 10.1159/000094291 Pubmed PMID: 16946614
- 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 Jul 02;65(5):259-64. doi: 10.1080/00016350701477581 Pubmed PMID:
- Huysmans MC, Young A, Ganss C. The role of fluoride in erosion therapy. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:230-43. doi: 10.1159/000360555 Pubmed PMID: 24993271
- Imai Y, Tamaki Y. Measurement of adsorption of salivary proteins onto soft denture lining materials. *The Journal of prosthetic dentistry.* 1999 Sep;82(3):348-51. Pubmed PMID: 10479264
- Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:55-73. doi: 10.1159/000360973 Pubmed PMID: 24993258
- João-Souza S, Bezerra S, Freitas P, de Lima N, Aranha A, Hara A, et al. In situ evaluation of fluoride-, stannous- and polyphosphate-containing solutions against enamel erosion. *J Dent.* 2017;63:30-5. doi: 10.1016/j.jdent.2017.05.014 Pubmed PMID: 28552363
- 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.
- Lee VM, Linden RW. An olfactory-submandibular salivary reflex in humans. *Exp Physiol.* 1992 Jan;77(1):221-4. Pubmed PMID: 1543588
- Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle-a review. *Adv Dent Res.* 2000 Dec;14:22-8. doi: 10.1177/08959374000140010301 Pubmed PMID: 11842920

Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:1-15. doi: 10.1159/000360380 Pubmed PMID: 24993253

Lussi A, Hellwig E. Erosive potential of oral care products. *Caries Res.* 2001;35 Suppl 1:52-6. doi: 49111 Pubmed PMID: 11359059

Lussi A, Hellwig E. Risk assessment and causal preventive measures. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:220-9. doi: 10.1159/000360612 Pubmed PMID: 24993270

Lussi A, Hellwig E. Risk assessment and preventive measures. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:190-9. doi: 10.1159/000093363 Pubmed PMID: 16687895

Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides-mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2011;122(11):1030-42.

Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am J Dent.* 2006 Dec;19(6):319-25. Pubmed PMID: 17212071

Lussi A, Jaeggi T. Chemical factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:77-87. doi: 10.1159/000093353 Pubmed PMID: 16687886

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38 Suppl 1:34-44. doi: 10.1159/000074360 Pubmed PMID: 14685022

Lussi A, Jaggi T, Scharer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res.* 1993;27(5):387-93. Pubmed PMID: 8242676

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. doi: 10.1159/000325915 Pubmed PMID: 21625128

Macdonald E, North A, Maggio B, Sufi F, Mason S, Moore C, et al. Clinical study investigating abrasive effects of three toothpastes and water in an in situ model. *J Dent.* 2010 Jun;38(6):509-16. doi: 10.1016/j.jdent.2010.03.007 Pubmed PMID: 20307624

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. doi: 10.1159/000135672 Pubmed PMID: 18523386

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. doi: 10.1159/000096110 Pubmed PMID: 17167264

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.* 2009 Jan-Feb;17(1):56-60. Pubmed PMID: 19148407

Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:158-70. doi: 10.1159/000325167 Pubmed PMID: 21701198

Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Honorio HM, Buzalaf MA. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009 Mar-Apr;17(2):75-86. Pubmed PMID: 19274390

Manarelli MM, Vieira AE, Matheus AA, Sasaki KT, Delbem AC. Effect of mouth rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries Res.* 2011;45(6):506-9. doi: 10.1159/000331929 Pubmed PMID: 21968459

Martins J, Sousa L, Oliveira A. Recomendações do enunciado CONSORT para o relato de estudos clínicos controlados e randomizados. *Medicina (Ribeirao Preto Online).* 2009;42(1):9-21.

Masson N, Domingues RR, Cury JA, Paes Leme AF. Acidulated Phosphate Fluoride Application changes the protein composition of human acquired enamel pellicle. *Caries Res.* 2013 Jan 19;47(3):251-8. doi: 10.1159/000346280 Pubmed PMID: 23343843

Meurman JH, Toskala J, Nuutinen P, Klemetti E. Oral and dental manifestations in gastroesophageal reflux disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994 Nov;78(5):583-9. Pubmed PMID: 7838463

Moazzez R, Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:180-96. doi: 10.1159/000360369 Pubmed PMID: 24993266

Monteiro CA, Mondini L, Costa RB. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Rev Saude Publ.* 2000;34:251-8. doi: 10.1590/S0034-89102000000300007

Moretto MJ, Magalhaes AC, Sasaki KT, Delbem AC, Martinhon CC. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res.* 2010;44(2):135-40. doi: 10.1159/000302902 Pubmed PMID: 20357443

- 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 Mar;58(1):106-11. doi: 10.1111/adj.12016 Pubmed PMID: 23441800
- Moustafa M, El-Refaie W, Elnaggar Y, Abdallah O. Gel in core carbosomes as novel ophthalmic vehicles with enhanced corneal permeation and residence. *Int J Pharm*. 2018. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.040 Pubmed PMID: 29778824
- 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. doi: 10.1111/j.1600-051X.1997.tb00203.x Pubmed PMID: 9205918
- 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. doi: 49110 Pubmed PMID: 11359058
- Pharmaceutical Bulletin 3 [Internet] Cleveland (Ohio): Lubrizol Advanced Materials. Polymer Handling and Storage; 2011 [acesso em 2018 Mai 10]; [aproximadamente 8 p.]. Disponível em: <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/Literature/Bulletin/Bulletin-03---Polymer-Handling-and-Storage.pdf>
- Pharmaceutical Bulletin 7 [Internet] Cleveland (Ohio): Lubrizol Advanced Materials. Flow and Suspension Properties; 2011 [acesso em 2018 Mai 10]; [aproximadamente 14 p.]. Disponível em: <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/Literature/Bulletin/Bulletin-07---Flow-and-Suspension-Properties.pdf>
- Pharmaceutical Bulletin 21 [Internet] Cleveland (Ohio): Lubrizol Advanced Materials. Formulating Semisolid Products; 2011 [acesso em 2018 Mai 10]; [aproximadamente 7 p.]. Disponível em: <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/Literature/Bulletin/Bulletin-21---Formulating-Semisolid-Products.pdf>
- Pini N, Schlueter N, Sundfeld D, Hogg WS, Santos-Silva A, Lopes M, et al. Efficacy of stannous ions on enamel demineralization under normal and hyposalivatory conditions: a controlled randomized in situ pilot trial. *Caries Res*. 2017;51(6):543-53. doi: 10.1159/000479041. Pubmed PMID: 28977796
- Rathbone MJ, Drummond BK, Tucker IG. The oral cavity as a site for systemic drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 1994 Jan-Feb;13(1):1-22. doi: 10.1016/0169-409X(94)90024-8

- Reed AJ, Bibby BG. Preliminary report on effect of topical applications of titanium tetrafluoride on dental caries. *J Dent Res*. 1976 May-Jun;55(3):357-8. doi: 10.1177/00220345760550031101 Pubmed PMID: 1063746
- 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 Dec;139(12):1652-6. Pubmed PMID: 19047671
- Rodrigues LK, Cury JA, Nobre dos Santos M. The effect of gamma radiation on enamel hardness and its resistance to demineralization in vitro. *J Oral Sci*. 2004 Dec;46(4):215-20. Pubmed PMID: 15901065
- Rykke M, Ellingsen J, Sönju T. Chemical analysis and scanning electron microscopy of acquired pellicle formed in vivo on stannous fluoride treated enamel. *Eur J Oral Sci*. 1991;99(3):205-11. Pubmed PMID: 1678548
- Sakae L, Bezerra S, João-Souza S, Borges A, Aoki I, Aranha A. An in vitro study on the influence of viscosity and frequency of application of fluoride/tin solutions on the progression of erosion of bovine enamel. *Archives of oral biology Arch Oral Biol*. 2018;89:26-30. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.01.017. Pubmed PMID: 29425811
- Saxegaard E, Rölla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 1988 Dec;96(6):523-35. Pubmed PMID: 3206198
- Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Frank NE, Hara AT. Sodium fluoride effect on erosion-abrasion under hyposalivatory simulating conditions. *Arch Oral Biol*. 2013 Oct;58(10):1457-63. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.06.004 Pubmed PMID: 23830616
- Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Zero DT, Aoki IV, Hara AT. Anti-erosive properties of solutions containing fluoride and different film-forming agents. *J Dent*. 2015 Apr;43(4):458-65. doi: 10.1016/j.jdent.2015.01.007 Pubmed PMID: 25625672
- 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 Dec;39(12):841-8. doi: 10.1016/j.jdent.2011.09.004 Pubmed PMID: 21945448

- Scaramucci T, João-Souza S, Lippert F, Eckert G, Aoki I, Hara A. Influence of toothbrushing on the antierosive effect of film-forming agents. *Caries Res.* 2016;50(2):104-10. doi: 10.1159/000443619 Pubmed PMID: 26930495
- Scaramucci T, Sobral MA, Eckert GJ, Zero DT, Hara AT. In situ evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives. *Caries research.* 2012;46(1):55-61. doi: 10.1159/000335572 Pubmed PMID: 22286364
- 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. doi: 10.1159/000098048. Pubmed PMID: 17284916
- Schlueter N, Jaeggi T, Lussi A. Is dental erosion really a problem? *Adv Dent Res.* 2012 Sep;24(2):68-71. doi: 10.1177/0022034512449836 Pubmed PMID: 22899683
- Schlueter N, Klimek J, Ganss C. In vitro efficacy of experimental tin-and fluoride-containing mouth rinses as anti-erosive agents in enamel. *Journal of dentistry.* 2009;37(12):944-8. Pubmed PMID:
- Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Randomised in situ study on the efficacy of a tin/chitosan toothpaste on erosive-abrasive enamel loss. *Caries Res.* 2013;47(6):574-81. doi: 10.1159/000351654 Pubmed PMID: 23969953
- Schlueter N, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Ganss C. Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2010 May;68(3):180-4. doi: 10.3109/00016350903555395 Pubmed PMID: 20095948
- Schlueter N, Tveit AB. Prevalence of erosive tooth wear in risk groups. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:74-98. doi: 10.1159/000359938 Pubmed PMID: 24993259
- Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:32-45. doi: 10.1159/000359936 Pubmed PMID: 24993256
- 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. doi: 10.1159/000325971 Pubmed PMID: 21625135
- Siqueira W, Custodio W, McDonald E. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res.* 2012 Dec;91(12):1110-8. doi: 10.1177/0022034512462578 Pubmed PMID: 23018818
- Strand R, inventor; Tha Procter and Gamble Company, assignee. Oral care compositions which comprises stannous and potassium salts 2011.

Technical Data Sheet 103 [Internet] Cleveland (Ohio): Lubrizol Advanced Materials. Dispersion Techniques for Carbopol® Polymers; 2007 [acesso em 2018 Mai 15]; [aproximadamente 5 p.]. Disponível em: <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/TDS/Dispersion-Techniques-for-Carbopol.pdf>.

Technical Data Sheet 103 [Internet] Cleveland (Ohio): Lubrizol Advanced Materials. Molecular Weight of Carbopol® and Pemulen® Polymers; 2007 [acesso em 2018 Mai 15]; [aproximadamente 3 p.]. Disponível em: <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/TDS/Molecular-Weight-of-Carbopol-and-Pemulen.pdf>.

Technical Data Sheet 103 [Internet] Cleveland (Ohio): Lubrizol Advanced Materials. Neutralizing Carbopol and Pemulen™ polymers in aqueous and hydroalcoholic systems; 2009 [acesso em 2018 Mai 15]; [aproximadamente 3 p.]. Disponível em: <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Life-Sciences/Documents/TDS/Neutralizing-Carbopol-and-Pemulen-in-Aqueous-and-Hydroalcoholic-Systems.pdf>

ten Cate JM, Featherstone JDB. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1991 Jan 1;2(3):283-96. doi: 10.1177/10454411910020030101 Pubmed PMID: 1892991

ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci*. 1996 Apr;104(2 Pt 2):241-4. Pubmed PMID: 8804892

Tezel H, Ergücü Z, Onal B. Effects of topical fluoride agents on artificial enamel lesion formation in vitro. *Quintessence Int*. 2002 May;33(5):347-52. Pubmed PMID: 12014163

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 Jul-Aug;37(4):363-9. doi: 10.2341/11-070-L Pubmed PMID: 22335304

Tveit AB, Kilinge B, Tötdal B, Selving KA. Long term retention of TiF₄ and SnF₂ after topical application to dentin in dogs. *Scand J Dent Res*. 1988 Dec;96(6):536-40. Pubmed PMID: 3206199

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 Jun;111(3):253-7. doi: 10.1034/j.1600-0722.2003.00031.x Pubmed PMID: 12786957

Villanova JCO, Oréface RL, Cunha AS. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros*. 2010;20:51-64.

Wang L, Casas-Apayco LC, Hipolito AC, Dreibi VM, Giacomini MC, Bim Junior O, et al. Effect of simulated intraoral erosion and/or abrasion effects on etch-and-rinse bonding to enamel. *Am J Dent*. 2014 Feb;27(1):29. Pubmed PMID: 24902402

Wegehaupt FJ, Taubock TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta Odontol Scand*. 2012 May;70(3):177-83. doi: 10.3109/00016357.2011.600713 Pubmed PMID: 21780974

Wei S, Soboroff D, Wefel J. Effects of titanium tetrafluoride on human enamel. *J Dent Res*. 1976 May-Jun;55(3):426-31. doi: 10.1177/00220345760550032101 Pubmed PMID: 1063752

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 Aug;40(8):654-60. doi: 10.1016/j.jdent.2012.04.015 Pubmed PMID: 22546265

White AJ, Gracia LH, Barbour ME. Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. *Caries Res*. 2011;45(1):13-20. doi: 10.1159/000322300 Pubmed PMID: 21160185

Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions-a review. *Oral Health Prev Dent*. 2003;1(4):245-54. Pubmed PMID: 15643752

Wiegand A, Bichsel D, Magalhaes AC, Becker K, Attin T. Effect of sodium, amine and stannous fluoride at the same concentration and different pH on in vitro erosion. *J Dent*. 2009 Aug;37(8):591-5. doi: 10.1016/j.jdent.2009.03.020 Pubmed PMID: 19403228

Wiegand A, Hiestand B, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Attin T. Effect of TiF₄, ZrF₄, HfF₄ and AmF on erosion and erosion/abrasion of enamel and dentin in situ. *Arch Oral Biol*. 2010 Mar;55(3):223-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.11.007 Pubmed PMID: 20083245

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. doi: 10.1159/000135669 Pubmed PMID: 18523383

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. doi: 10.1159/000353143 Pubmed PMID: 24401733

Willershausen B, Schulz-Dobrick B. In vitro study on dental erosion provoked by various beverages using electron probe microanalysis. *Eur J Med Res.* 2004 Sep 29;9(9):432-8. Pubmed PMID: 15546808

Zaman MA, Martin GP, Rees GD. Bioadhesion and retention of non-aqueous delivery systems in a dental hard tissue model. *J Dent.* 2010 Sep;38(9):757-64. doi: 10.1016/j.jdent.2010.06.005 Pubmed PMID: 20600550

Zaman MA, Martin GP, Rees GD. Mucoadhesion, hydration and rheological properties of non-aqueous delivery systems (NADS) for the oral cavity. *J Dent.* 2008 May;36(5):351-9. doi: 10.1016/j.jdent.2008.01.014 Pubmed PMID: 18343013

Zanatta RF. Influência de tensoativos sobre o efeito protetor da película e interação com NaF no desenvolvimento da erosão dental [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2016

Zero D, Raubertas R, Pedersen A, Fu J, Hayes A, Featherstone J. Studies of fluoride retention by oral soft tissues after the application of home-use topical fluorides. *J Dent Res.* 1992;71(9):1546-52. doi: 10.1177/00220345920710090101 Pubmed PMID: 1522285

Zero DT. Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. *BMC Oral Health.* 2006;6 Suppl 1:S9. doi: 10.1186/1472-6831-6-S1-S9 Pubmed PMID: 16934126

Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2):162-77. doi: 10.1111/j.1875-595X.2005.tb00066.x Pubmed PMID: 8804884

Zero DT, Lussi A. Behavioral factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:100-5. doi: 10.1159/000093356 Pubmed PMID: 16687888

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. doi: 10.1111/j.1875-595X.2005.tb00066.x Pubmed PMID: 16167607

Zhang Y, Zheng J, Yu J, He H. Mechanical characterization of in vitro-formed short-term salivary pellicle. *J Biomech.* 2018;66:194-7. doi: 10.1016/j.jbiomech.2017.11.001 Pubmed PMID: 29154086

APÊNDICE A - Carta de Informação ao Voluntário

- A parte experimental *in situ* terá duração total de 15 dias, sendo que cada uma das três fases durará 5 dias. Em cada fase, o aparelho deverá ser utilizado durante o dia, por 6 horas, com exceção das refeições, ao ingerir bebidas que não a água, ao se realizar a higiene oral e durante o período noturno. Entre cada fase, haverá um período de descanso de 7 dias, em que o aparelho não deverá ser utilizado.
- Em todas as ocasiões em que for beber algo que não seja água ou comer, remova o aparelho da boca e coloque-o na caixa sobre a gaze umedecida com água deionizada (que será fornecida pelos pesquisadores). Após ingestão de alimentos e bebidas (exceto água) entre as refeições principais, enxágue a boca com água corrente ou realize a higiene oral e aguarde 15 minutos antes de colocar novamente o aparelho na boca;
- Realize a higienização dos dentes naturais normalmente 3x/dia (após café da manhã, almoço, jantar) com a escova de dente, creme dental e fio dental (o creme dental será fornecido pelos pesquisadores);
- Escove somente a superfície interna do aparelho com a escova de dente fornecida pelos pesquisadores duas vezes por dia, sem a pasta de dente: ao acordar e antes de dormir. Não escove a superfície que contém os fragmentos de esmalte dental;
- Durante o experimento, interrompa o uso de qualquer enxaguatório bucal;

- Durante as 3 fases de 5 dias (de XX/XX/2017 a XX/XX/2017, XX/XX/2017 a XX/XX/2017 e de XX/XX/2017 a XX/XX/2017) você deverá realizar devidamente os procedimentos instruídos pelos pesquisadores.
- Ao final do 5º. dia de cada fase, os aparelhos contendo as amostras serão recolhidos pelos pesquisadores para as análises em laboratório;
- Caso você tenha algum desconforto durante o experimento, comunique imediatamente os pesquisadores responsável pelos telefones: (12) 98154-0908 (Tim) ou pelo email: daniele-mara@uol.com.br;
- Sua colaboração é de extrema importância para o bom andamento deste experimento. Os horários e número de imersão na solução de ácido cítrico, bem como o uso ininterrupto do aparelho são essenciais para que a pesquisa forneça resultados confiáveis;

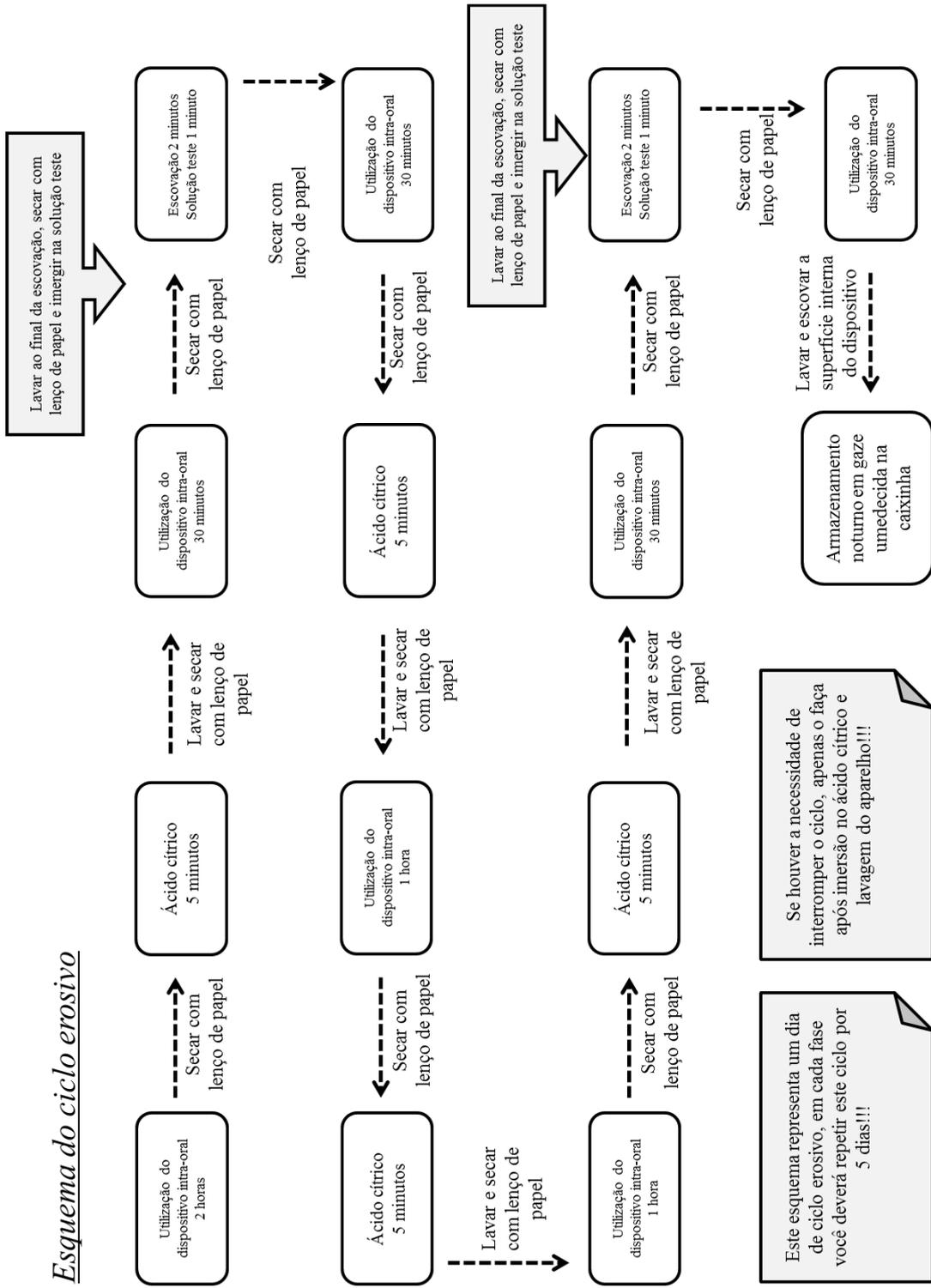
AGRADEÇEMOS IMENSAMENTE SUA COLABORAÇÃO E DISPONIBILIDADE, E ESTAMOS À DISPOSIÇÃO PARA QUAISQUER ESCLARECIMENTOS.

- Durante cada fase utilize o quadro abaixo para facilitar seu entendimento em relação ao ciclo e se certificar dos procedimentos já realizados. Na coluna correspondente ao dia de ciclo, marque com um “X” na linha do procedimento já realizado e a hora em que iniciou o procedimento, apenas para se orientar. Para ficar mais claro seu entendimento, há um esquema do ciclo erosivo a ser seguido para cada dia.

<i>Xª Fase (XX/XX/2017 a XX/XX/2017)</i>					
Procedimentos	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 2 h					
✓ Imersão no ácido cítrico: 5 min					
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 30 min					
✓ Escovação: 15 seg escova ativada 2 min dentifrício na amostra ✓ Imersão na solução teste: 1 min					
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 30 min					
✓ Imersão no ácido cítrico: 5 min					
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 1 h					
✓ Imersão no ácido cítrico: 5 min					
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 1 h					
✓ Imersão no ácido cítrico: 5 min					
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 30 min					
✓ Escovação: 15 seg escova ativada 2 min dentifrício na amostra ✓ Imersão na solução teste: 1 min					
✓ Utilização do dispositivo intra-oral: 30 min					

Fonte: Elaborado pelo autor.

Esquema do ciclo erosivo



Lavar ao final da escovação, secar com lenço de papel e imergir na solução teste

Lavar ao final da escovação, secar com lenço de papel e imergir na solução teste

APÊNDICE B – Aleatorização das amostras e voluntários para cada tratamento da Etapa *in situ*

As amostras foram aleatorizadas em 15 colunas representando cada voluntário do estudo. Cada voluntário ficou com 12 amostras para dividir em 3 fases do estudo (Quadro 2).

Quadro 2 - Aleatorização das amostras por voluntário

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
173	35	157	21	90	135	199	94	34	54	114	195	44	81	167
52	64	66	57	82	73	111	161	130	151	101	149	59	107	84
184	146	62	153	123	186	37	125	147	36	53	171	194	185	31
3	169	87	176	68	182	121	55	197	1	48	129	103	198	29
124	10	69	202	20	99	67	2	95	141	139	134	42	17	50
71	117	132	100	25	70	51	24	96	75	203	30	181	104	12
131	60	174	15	74	138	16	175	156	6	170	102	191	78	160
172	168	56	192	89	47	140	150	137	145	180	39	85	183	91
201	118	14	179	93	152	113	166	108	200	142	112	177	144	77
164	49	165	190	13	63	4	105	133	109	162	92	187	155	23
159	76	119	193	7	11	41	22	58	79	32	27	120	26	127
83	18	43	61	158	65	106	97	5	80	19	163	28	72	40

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os nomes dos voluntários foram organizados em ordem alfabética e conseqüentemente em ordem numérica. Em seguida os números foram aleatorizados (Quadro 3).

Quadro 3 - Aleatorização dos voluntários

9	12	13	1	6	3	2	11	10	14	4	5	15	8	7
---	----	----	---	---	---	---	----	----	----	---	---	----	---	---

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após a aleatorização dos voluntários, foi feita a aleatorização dos tratamentos, para estabelecer o tratamento correspondente para cada fase de cada voluntário (Quadro 4).

Quadro 4 - Aleatorização dos tratamentos

9	12	13	1	6	3	2	11	10	14	4	5	15	8	7
3	3	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	3	3	2
2	1	3	3	1	2	3	3	2	3	2	3	1	2	1
1	2	1	2	3	3	2	1	3	1	3	2	2	1	3

Fonte: Elaborado pelo autor.

Por fim, foi feita a aleatorização das amostras individualmente de cada voluntário depois que o tratamento já tenha sido estabelecido em cada fase (Quadro 5).

Sendo assim foi feita a aleatorização de quais amostras seriam escovadas (abrasão) ou não, e foram identificadas por um asterisco (*) as amostras que seriam escovadas.

Para todos os dispositivos, as amostras foram inseridas respeitando a aleatorização, além de serem inseridas em uma ordem numérica de menor para maior da região do incisivo para o molar respectivamente, apenas para uma orientação caso alguma amostras fosse perdida.

Quadro 5 - Aleatorização dos tratamentos com amostras

voluntários	9	12	13	1	6
1ª Fase	34	195*	44	173*	135
	trat 130*	trat 149	trat 59*	trat 52	trat 73*
	3 147	3 171*	2 194*	1 184	2 186*
	197*	129	103	3*	182
2ª Fase	95	134	42	124*	99*
	trat 96*	trat 30*	trat 181*	trat 71	trat 70*
	2 156	1 102*	3 191*	3 131	1 138
	137*	39	85	172*	47
3ª Fase	108	112	177	201*	152
	trat 133*	trat 92	trat 187*	trat 164	trat 63*
	1 58*	2 27*	1 120*	2 159*	3 11*
	5	163*	28	83	65
voluntários	3	2	11	10	14
1ª Fase	157*	35	114*	54	81
	trat 66*	trat 64*	trat 101*	trat 151	trat 107*
	1 62	1 146*	2 53	1 36*	2 185*
	87	169	48	1*	198
2ª Fase	69	10*	139	141*	17*
	trat 132*	trat 117*	trat 203*	trat 75*	trat 104
	2 174	3 60	3 170	2 6	3 78
	56*	168	180*	145	183*
3ª Fase	14*	118	142*	200*	144
	trat 165	trat 49*	trat 162*	trat 109*	trat 155*
	3 119*	2 76*	1 32	3 79	1 26
voluntários	4	5	15	8	7
1ª Fase	21	90	167	94	199
	trat 57*	trat 82	trat 84*	trat 161*	trat 111*
	1 153	1 123*	3 31*	3 125	2 37*
	176*	68*	29	55*	121
2ª Fase	202*	20	50	2	67*
	trat 100	trat 25*	trat 12*	trat 24	trat 51
	2 15	3 74	1 160*	2 175*	1 16*
	192*	89*	91	150*	140
3ª Fase	179*	93*	77*	166	113
	trat 190*	trat 13*	trat 23*	trat 105*	trat 4
	3 193	2 7	2 127	1 22*	3 41*
	61	158	40	97	106*

Legenda: O tratamento 1 correspondeu à água deionizada (controle), o tratamento 2 foi a associação NaF+Sn e o tratamento 3 a associação NaF+Sn+Carb.

Fonte: Elaborado pelo autor.

ANEXO A – Parecer substanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPh)

INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação in situ do efeito protetor do flúor associado ao polímero bioadesivo Carbopol no desenvolvimento da erosão dental.

Pesquisador: Alessandra Buhler Borges

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 48512915.1.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.282.774

Apresentação do Projeto:

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio - controle positivo (900 ppm F), fluoreto de sódio + Carbopol 980 e da água deionizada – controle negativo, utilizando um modelo in situ em 3 fases. Doze voluntários participarão deste estudo após assinarem um termo de consentimento livre e esclarecido. Em cada fase, os voluntários usarão um dispositivo mandibular contendo 8 espécimes de esmalte bovino, os quais serão submetidos à um ciclo de erosão e remineralização por 5 dias, que consistirá na imersão extra oral dos dispositivos mandibulares em ácido cítrico 0,3% (pH 2,8) por 2 min, 6x/dia, com intervalos de 1 h de exposição a saliva, in situ, entre os desafios. O tratamento com as soluções teste será realizado extra oralmente, 2x/dia, por 1 min, 30 min após o primeiro e o último desafio erosivo. Após o segundo desafio ácido, pós tratamento, duas amostras de cada dispositivo mandibular serão removidas para análise de microdureza Knoop. Ao final do experimento, a perda superficial (em μm) dos espécimes restantes será avaliada por perfilometria. Os dados de perda de superfície dos espécimes de cada

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br

INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP



Continuação do Parecer: 1.282.774

voluntário, em cada fase, serão submetidos à análise estatística apropriada.

Objetivo da Pesquisa:

A proposta do presente estudo é avaliar a influência do polímero bioadesivo Carbopol 980 no efeito remineralizante e protetor de uma solução fluoretada sobre o desenvolvimento da erosão dental.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os voluntários poderão sentir um leve desconforto pelo uso do aparelho removível, que será minimizado com o ajuste criterioso do dispositivo. Como os desafios erosivos e o tratamento serão realizados fora da boca, não se prevê nenhum risco ao paciente.

Benefícios:

Os resultados desta pesquisa contribuirão para um maior conhecimento sobre o tema abordado no meio científico. Clinicamente, pacientes com predisposição à erosão dental ou com sinais clínicos de erosão poderão ser beneficiados com os avanços das pesquisas nesta área.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

nada a declarar

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

adequados

Recomendações:

QUANTO A SELEÇÃO DE VOLUNTÁRIOS: DEVES TROCAR A PALAVRA ALEATÓRIO E INSERIR A PALAVRA " SELEÇÃO POR CRITÉRIO", POIS QUANDO FALAS QUE IRÁ UTILIZAR INCLUSÃO E EXCLUSÃO, ESTAS USANDO UM CRITÉRIO PARA ESCOLHA E NÃO O "ALEATÓRIO".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As correções foram feitas de forma satisfatória.

Considerações Finais a critério do CEP:

RECOMENDAÇÕES: QUANTO A SELEÇÃO DE VOLUNTÁRIOS: DEVES TROCAR A PALAVRA ALEATÓRIO E INSERIR A PALAVRA " SELEÇÃO POR CRITÉRIO", POIS QUANDO FALAS QUE IRÁ UTILIZAR INCLUSÃO E EXCLUSÃO, ESTAS USANDO UM CRITÉRIO PARA ESCOLHA E NÃO O

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
 Bairro: Jardim São Dimas CEP: 12.245-000
 UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS
 Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cep@fosjc.unesp.br

**INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP**



Continuação do Parecer: 1.282.774

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_564849.pdf	16/09/2015 20:23:05		Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	16/09/2015 20:09:32	Alessandra Buhler Borges	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	16/09/2015 20:08:34	Alessandra Buhler Borges	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	16/09/2015 20:04:33	Alessandra Buhler Borges	Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto.pdf	10/08/2015 10:33:41		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 15 de Outubro de 2015

**Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)**

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
 Bairro: Jardim São Dimas CEP: 12.245-000
 UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS
 Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido do estudo *in vitro*

Caro(a) Senhor(a)

Eu, Alessandra Bühler Borges, Professora Assistente Doutora do Departamento de Odontologia Restauradora da UNESP - Campus de São José dos Campos - Faculdade de Odontologia, à Av. Eng.º Francisco José Longo, 777 – São José dos Campos - SP, telefone para contato nº 012-3947-9051, vou coordenar a pesquisa: “Avaliação do efeito protetor de fluoretos associados ao polímero bioadesivo Carbopol no desgaste erosivo”.

O objetivo desse trabalho será comparar diferentes soluções fluoretadas usadas para bochecho, com a finalidade de prevenir o desgaste erosivo dental. A simulação da película adquirida em estudos laboratoriais eleva o estudo para uma aproximação das condições clínicas, com relação à erosão do esmalte dental. A realização do presente estudo envolve o uso de saliva humana para simulação da condição bucal em estudos laboratoriais. Serão coletados cerca de 50 ml de saliva, em tubos plásticos estéreis, no período da manhã, na Faculdade de Odontologia da UNESP por membros da equipe do projeto. O procedimento é simples, indolor e sem envolvimento de riscos aos voluntários.

Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-UNESP, situada na Av. Engº Francisco José Longo, 777 – CEP 12245000, em São José dos Campos-SP, fone 012-3947-9006, e comunique-se com Carlos Guedes. Informo que será garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela Colaboração.

Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido devidamente esclarecido(a) a respeito das informações que leram para mim, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em participar sabendo quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa.

Concordo em participar voluntariamente deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido.

São José dos Campos, ____ de _____ de 20__.

Nome do voluntário: _____

Idade: ____ anos R.G. _____

Assinatura do paciente

Assinatura do Pesquisador

ANEXO C - Termo de consentimento livre e esclarecido do estudo *in situ*

Você está sendo convidado(a) para participar da pesquisa: “Avaliação *in situ* do efeito protetor do flúor associado ao polímero bioadesivo Carbopol no desenvolvimento da erosão dental.”, que possui como pesquisador responsável a Prof^a. Dr^a. Alessandra Bühler Borges, do Departamento de Dentística do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos. Antes de concordar em participar desse estudo, é importante que você leia com atenção esse formulário. Ele descreve os objetivos, procedimentos, benefícios, riscos e desconfortos do estudo. As informações contidas neste formulário têm objetivo de firmar acordo escrito mediante o qual você -o voluntário- autoriza a sua participação na pesquisa, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos a que se submeterá, com capacidade de livre-arbítrio e sem qualquer coação.

Contexto e objetivos da pesquisa

A erosão dental é a perda gradual dos tecidos duros dos dentes (esmalte e dentina) causada por ação de ácidos, que comumente estão presentes na dieta, como nos refrigerantes e nos sucos de frutas cítricas. As lesões de erosão podem ser reproduzidas no laboratório em fragmentos de dentes. Esses fragmentos podem então ser fixados em dispositivos que serão utilizados na boca de voluntários, a fim de nos ajudar a testar produtos para combater esse processo.

Nesse estudo, iremos testar 3 soluções contendo diferentes substâncias com o objetivo de prevenir a erosão.

Justificativa

Há a necessidade de se buscar substâncias efetivas para a prevenção e o controle da erosão dental. Este estudo testará diferentes substâncias em um modelo que simula a situação clínica com mais fidelidade.

Procedimentos

Os voluntários selecionados terão a sua arcada dental superior moldada para a confecção de um aparelho removível palatal em resina acrílica. Cada dispositivo conterà 4 fragmentos de esmalte bovino esterilizados. Dois dias antes do início do experimento e

durante todo o experimento, o voluntário da pesquisa, deverá utilizar exclusivamente a escova de dente, o creme dental com flúor e o fio dental fornecidos pela pesquisadora.

O experimento total irá durar 35 dias: 2 dias iniciais de preparação e 3 fases experimentais de 5 dias de utilização do dispositivo palatal. Entre as fases experimentais haverá períodos de descanso de 7 dias, nos quais o voluntário da pesquisa, não utilizará o aparelho intra oral. Na prática, você utilizará o dispositivo durante 15 dias.

Durante as semanas de uso do dispositivo, os espécimes serão submetidos à simulação de erosão e ao tratamento com as soluções teste.

Para a erosão: o voluntário da pesquisa, irá adaptar o aparelho em boca pela manhã (aproximadamente $8h \pm 30min$) e após 02 horas, você irá imergir o aparelho nos frascos fornecidos pela pesquisadora contendo ácido cítrico 1% (pH 2,3) por 5 minutos, 4 vezes ao dia, em intervalos de 1h, durante os dias e horários pré-determinados. Após a imersão, o aparelho será seco cuidadosamente em papel absorvente e reinsertado na boca, até a próxima imersão. Cada imersão deverá ser feita em um novo ácido, podendo o anterior ser descartado. 30 minutos após o primeiro desafio ácido e 30 minutos após o último desafio de cada dia, o voluntário deverá realizar a escovação com a escova elétrica, fora da boca, nos espécimes de apenas um lado, escolhido por aleatorização, por 15 s com a escova elétrica ativa, utilizando o dentifrício fornecido pelo pesquisador, e o dentifrício permanecerá nos espécimes por 2 min, em seguida será lavado com água da torneira até a completa remoção do dentifrício, após a escovação o dispositivo será imerso nas soluções teste, também fornecida pela pesquisadora por 1 min.

Ao final de cada fase experimental (nas sextas-feiras, em horários pré-combinados com os pesquisadores), o voluntário deverá comparecer no ICT para a entrega dos aparelhos. Passado 7 dias do período de descanso (nas sextas-feiras, em horários pré-combinados), o voluntário deve comparecer novamente ao ICT para a retirada do dispositivo contendo novos espécimes, e das soluções teste, para serem utilizadas na etapa seguinte do experimento, que terá início na segunda-feira.

Riscos e Desconforto

Os voluntários poderão sentir um leve desconforto pelo uso do aparelho removível, que será minimizado com o ajuste criterioso do dispositivo. Como os desafios erosivos e o tratamento serão realizados fora da boca, não se prevê nenhum risco ao paciente.

Benefícios

Os resultados desta pesquisa contribuirão para um maior conhecimento sobre o tema abordado no meio científico. Clinicamente, pacientes com predisposição à erosão dental ou com sinais clínicos de erosão poderão ser beneficiados com os avanços das pesquisas nesta área.

Forma de acompanhamento e assistência

Todos os procedimentos serão acompanhados pelas pesquisadoras. Além disso, as mesmas oferecerão toda a assistência necessária durante a pesquisa, se o voluntário tiver qualquer problema com o uso do dispositivo intra oral.

Garantia de Sigilo da identidade do sujeito da pesquisa:

Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. As informações fornecidas e o material que indique a sua participação serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Nada será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Curso de Dentística do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos e outra será fornecida a você.

Garantia de esclarecimentos, Liberdade de Recusa

Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. A sua participação é voluntária e você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem prejuízos.

Custos da Participação, Ressarcimento ou indenização

A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional. Não há indenização prevista, pois a presente pesquisa não oferece qualquer dano ao indivíduo.

Qualquer dúvida ou problema relativo à pesquisa deve ser comunicado com a maior brevidade possível à Daniele Ávila através do telefone (12) 9-8154-0908 (Tim) ou pelo email daniele.avila@fozjc.unesp.br

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPh) do Instituto de Ciência e Tecnologia de

São José dos Campos (Av. Engº Francisco José Longo, 777 – CEP 12245-000 São José dos Campos – SP, telefone 012-3947-9048), e comunique-se com a Coordenadora Jante Dias Almeida.

Após ter sido informado e ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pela pesquisadora, declaro que concordo em participar de forma voluntária desta pesquisa. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Local e Data

Nome do Participante

Assinatura

RG ou CPF

Pesquisadora Responsável

Assinatura

CRO/SP