

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 16/12/2027



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

TAMIREZ PASSADORI MARTINS

**ENGENHARIA DA PELÍCULA ADQUIRIDA COM
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO E PEPTÍDEOS PARA A
PROTEÇÃO CONTRA A EROSÃO DO ESMALTE E DA
DENTINA**

Araçatuba - SP

2025

TAMIREZ PASSADORI MARTINS

**ENGENHARIA DA PELÍCULA ADQUIRIDA COM
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO E PEPTÍDEOS PARA A
PROTEÇÃO CONTRA A EROÇÃO DO ESMALTE E DA
DENTINA**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Saúde Bucal da Criança.

Orientador: Prof. Assoc. Dr. Juliano Pelim Pessan

Coorientadora: Prof.^a. Tit. Marília Afonso Rabelo Buzalaf

Coorientadora: Prof.^a. Dr^a. Annette Wiegand

Araçatuba

2025

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M386e Martins, Tamires Passadori.
Engenharia da película adquirida com trimetafosfato de sódio e peptídeos para a proteção contra a erosão do esmalte e da dentina / Tamires Passadori Martins. - Araçatuba, 2025
81 f. : il. ; tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientador: Prof. Juliano Pelim Pessan

1. Erosão dentária 2. Película dentária 3. Peptídeos
4. Polifosfatos I. T.

Black D27
CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus pais, José Carlos e Elisângela:

Porque, antes mesmo que eu soubesse sonhar, eles já sustentavam meus passos com uma firmeza que dispensa alarde. Com eles aprendi que o esforço silencioso vale mais do que qualquer atalho, que a fé atravessa os dias difíceis e que o amor verdadeiro se prova no cotidiano. Foram eles que me ensinaram a permanecer quando o caminho inclinava, a levantar quando a dúvida pesava e a seguir com honestidade, mesmo quando ninguém estava olhando. Se hoje chego até aqui, não o faço sozinha: cada conquista traz o eco do que plantaram em mim. Esta tese leva meu nome, mas é, em essência, fruto da generosidade, da disciplina e da luz que sempre me ofereceram. A eles, todo o meu amor, respeito e gratidão!

Tamires Passadori Martins

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus,

Minha luz e fortaleza, cujas mãos me guiaram com suavidade e firmeza. Que a minha vida continue a testemunhar a fidelidade d'Aquele que nunca abandona os seus.

À minha amada família,

Pelo amor que me cerca, pelo apoio que sustenta meus passos e pela confiança que renova meu ânimo. Obrigada por me mostrarem, dia após dia, que a força nasce da união e que, quando caminhamos juntos, até o impossível se torna caminho. Sou profundamente privilegiada por tê-los ao meu lado. Amo vocês.

À querida família Souza-Silva, minha família do coração,

Pelo carinho com que me acolheram desde tão cedo e pelo lugar que sempre me reservaram em suas vidas. Especialmente à **Luciana** e **Odema**, minha gratidão por cuidarem de mim com afeto ao longo de tantos anos. À **Maria Fernanda**, que a vida me deu como irmã mais nova, deixo meu amor cheio de alegria e gratidão. Obrigada por torcerem por mim ontem, hoje e sempre.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Juliano Pelim Pessan,

Pela generosidade com que partilhou seu conhecimento e pela compreensão que tantas vezes sustentou meu percurso. Agradeço pela atenção cuidadosa, pela disponibilidade constante e pelo apoio que me acompanhou desde a Iniciação Científica, passando pelo Mestrado, até o Doutorado. Sou profundamente grata pelas oportunidades que ampliaram meus horizontes e me permitiram crescer. Sua dedicação, excelência e empatia ao ensinar permanecem como referência e inspiração para mim.

Às minhas coorientadoras, Prof^a. Dr^a. Marília Afonso Rabelo Buzalaf e Prof.^a Dr^a. Annette Wiegand,

À **Prof^a Marília**, agradeço pelo suporte constante ao longo do desenvolvimento deste projeto, pela oportunidade de aproximar-me de uma temática à qual dedica sua trajetória e pelo exemplo inspirador de pesquisadora que és. Estendo minha gratidão

Tamires Passadori Martins

a toda sua equipe, especialmente à **Larissa Grizzo, Éven Taira, Talita Ventura, Natara Dias, Carolina Ferrari e Adriano Pessoa**, cuja colaboração generosa foi essencial em tantas etapas deste trabalho.

À **Profª Annette**, sou profundamente grata pela oportunidade, acolhida e compreensão durante minha estadia em Göttingen. Cada orientação e cada gesto de cuidado contribuíram para meu crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço, igualmente, a todos do Departamento de Cariologia, Periodontia e Odontologia Preventiva da Universidade de Medicina de Göttingen (UMG), em especial a **Alexandra Schmidt, Bianca Rohland, Sarah Barke e Katrin Siegmann**, profissionais cuja cordialidade e competência deixaram marcas positivas na minha passagem pela universidade.

Ao Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem,

Pela disponibilidade, pelos ensinamentos e pela colaboração essencial na execução deste trabalho, garantindo sempre o pleno funcionamento do laboratório.

Ao Prof. Dr. Antonio Hernandes Chaves-Neto e à Profª Drª Fernanda Vicioni Marques,

Pela disponibilidade e pelas valiosas considerações apresentadas em meu Exame Geral de Qualificação. Foi uma honra tê-los como membros da banca, cuja presença tornou o momento mais leve e enriquecedor, trazendo novos olhares e aprendizados ao meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Rogério de Castilho Jacinto,

Por sua atuação como meu professor e orientador clínico durante a disciplina de Endodontia na graduação, bem como pela contribuição à minha formação ao longo da pós-graduação. Agradeço pelos ensinamentos transmitidos, bem como por aceitar prontamente o convite para integrar a banca examinadora desta tese.

Ao Prof. Dr. Igor Zen,

Por me ajudar a dar os primeiros passos na pesquisa, ainda na iniciação científica, e cuja orientação se entrelaçou a uma amizade sincera. Agradeço pelas conversas que sempre iluminaram o caminho, pelo exemplo de profissional que sigo admirando e pelo incentivo constante que me guiou ao caminho acadêmico. Sua

Tamires Passadori Martins

presença foi, e continua sendo, um convite a crescer com coragem e propósito. Obrigada por compor esta banca; é uma alegria contar com sua participação.

À Prof.^a Dr^a Liliana Carolina Báez-Quintero,

Por ter sido minha coorientadora e companheira de trabalho durante o mestrado, conduzindo-me com paciência e rigor pelas metodologias que também me auxiliaram no doutorado. Agradeço pelos ensinamentos técnicos, mas, sobretudo, pelos aprendizados que ultrapassaram a pesquisa, como a importância dos gestos simples e do olhar atento ao que verdadeiramente sustenta a vida acadêmica e pessoal. Sua presença deixou marcas que levo comigo com profunda estima e gratidão. É uma honra tê-la na banca desta tese.

À Prof.^a Dr^a Letícia Cabrera Capalbo,

Pela gentileza, paciência, generosidade e amizade que marcaram nossa convivência ao longo da pós-graduação. Sou grata por sua disponibilidade, pelas sugestões que orientaram meus passos, pelos ensinamentos metodológicos que ampliaram meu olhar e pelo amparo nos momentos de dúvidas. Admiro-a imensamente: na profissional que inspira, na mãe dedicada e na pessoa íntegra e sensível que é. Como lhe disse certa vez, é uma alegria imensa vê-la conquistar novos espaços; minha torcida por você é sincera e constante. Agradeço, ainda, por aceitar prontamente compor a banca avaliadora desta tese.

Às minhas amigas Mayra Fernanda Ferreira, Marcella Santos Januzzi e Geórgia Rondó Peres,

Por ocuparem, cada uma, um espaço de irmã em minha vida. Mayra, que dividiu comigo os anos intensos da graduação e seguiu ao meu lado também na pós-graduação, sendo parceira constante nas alegrias e nos desafios. Marcella, amiga desde a graduação e irmã na fé, cuja presença firme e afetuosa sempre trouxe luz aos meus dias. Ela que é olhar atento, oração silenciosa e torcida vibrante. E Geórgia, presente que a pós-graduação me deu, que dividiu a casa comigo e rapidamente se tornou família, dessas que o coração reconhece de imediato.

A cada uma, minha gratidão mais sincera e minha torcida eterna. Caminhar com vocês fez desta trajetória algo muito maior do que um percurso acadêmico; fez dela um capítulo de amor, força e amizade verdadeira. Estaremos sempre juntas!

Às minhas amigas e companheiras de pesquisa, Isabela Maria Passarela Gomes e Isabela Ferreira da Silva,

Por estarem ao meu lado em cada alegria, conquista e também nos momentos de incerteza que a pesquisa naturalmente traz. Vocês tornaram o caminho mais leve, mais bonito e muito mais viável. Foram minhas parceiras de verdade, sempre dispostas a ajudar, a ouvir e a dividir o peso dos dias; minhas mãos e braços direitos em diversos momentos. Aproveito também para deixar meu carinho ao **Arthur Ferreira Namba**, esse garotinho tão especial e amado por mim, que iluminou tantos dias com sua doçura.

A amizade que construímos é um presente que levo para além da pós-graduação e quero guardar para a vida inteira.

Aos meus amigos Gabriel Pereira Nunes e Priscila Toninatto Alves de Toledo,

Por tornarem a pós-graduação mais leve e cheia de momentos inesquecíveis. Entre risadas, desafios e confidências, vocês foram apoio constante e incentivo sincero. Sou grata pela amizade que construímos e por toda a torcida que sempre me dedicaram. Que sigamos juntos, levando essa amizade para além da universidade.

Às minhas amigas Mariana Sati Tsutsumi, Claudia Simões, Isabela Peres e Alanna Mateus,

Mariana, que dividiu comigo a casa no mestrado e, nesse convívio, construiu um vínculo que o tempo apenas aprofunda. Carinho, apoio e torcida recíproca que seguem firmes, independentemente das mudanças da vida.

Claudia, encontro precioso da pós-graduação, cuja presença terna e bondade genuína tornaram muitos dias mais leves. É sempre um privilégio cruzar com pessoas que fazem o bem de forma tão natural.

Isabela, amiga de mais de uma década, que mesmo com a distância permanece sempre perto. Nossa amizade, longe de se desgastar, cresce com o tempo e se fortalece nas pequenas demonstrações de afeto e constância.

Alanna, mais um feliz encontro da pós-graduação, companhia leve e alguém por quem torço com sinceridade.

A cada uma de vocês, minha gratidão e meu carinho.

Às amigas que a vida me deu em Göttingen, Fernanda Sala, Tarcila Lins, Paula Prado e Ana Schwarzer,

Por tornarem minha estadia na Alemanha infinitamente mais leve e feliz. Vocês foram companhias essenciais nas tardes floridas de primavera, nos almoços de domingo que aqueciam o coração longe de casa e até nos perrengues compartilhados, como quando perdíamos o trem e transformávamos o imprevisto em história. Levo um carinho enorme por cada uma de vocês e pela alegria genuína que trouxeram aos meus dias.

A todos os professores participaram da minha formação,

Especialmente ao **Prof. Dr. Robson Frederico Cunha, Prof^a Dr^a Cristiane Duque, Prof^a Dr^a Marcelle Danelon e Dr^a Jackeline Gallo do Amaral**, deixo minha sincera gratidão. Cada um de vocês foi, à sua maneira, inspiração e exemplo para mim. Agradeço pelas oportunidades que me ofereceram ao longo da trajetória, pelo incentivo constante e pelo apoio generoso sempre que necessário. Levo comigo os ensinamentos e a admiração pelo trabalho que desempenham com tanto compromisso e excelência.

Aos voluntários da pesquisa,

Muito obrigada pela disponibilidade, compreensão e dedicação. Sem vocês, este estudo não seria possível!

A Haylla Faria, Renata Alves, José Roberto Matos, Luigi Pedrini, Maria Ferreira, Amanda Costa, Amanda Silva, Samuel Campos, Jesse Augusto e demais colegas de laboratório e Pós-Graduação,

Tamires Passadori Martins

Agradeço pelo convívio cordial ao longo desses anos e pelo auxílio sempre oferecido quando necessário. A presença de vocês contribuiu de forma significativa para minha trajetória.

Tamires Passadori Martins

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, **Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem**, e do vice-diretor, **Prof. Assoc. Dr. Luciano Cintra**.

Ao Programa de **Pós-Graduação em Ciências** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, representado por seu coordenador, **Prof. Assoc. Dr. Rogério de Castilho Jacinto**.

Aos funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, **Valéria Zagatto, Cristiane Lui, Elis, Lucas e Camila**, pela competência e pelo profissionalismo.

Aos funcionários do laboratório de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Luiz, Mário e Marcel**, por toda a atenção e suporte disponibilizados.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio financeiro – Código de Financiamento 001.

À **Pró-Reitoria de Pós-Graduação da UNESP**, pela concessão da bolsa de internacionalização (Edital 44/2022).

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pelo apoio financeiro, concedido por meio dos Processos 19/26070-1 e 2023/16822-1.

Ao **Frigorífico JBS-Friboi** (Andradina-SP), na pessoa da diretora executiva de operações, **Sra. Meire Sato**, por permitir a coleta dos dentes bovinos utilizados no estudo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho, meus mais sinceros agradecimentos!

Tamires Passadori Martins

“Não existem sonhos impossíveis para aqueles que realmente acreditam que o poder realizador reside no interior de cada ser humano. Sempre que alguém descobre esse poder, algo antes considerado impossível se torna realidade.”

Albert Einstein

RESUMO GERAL

Martins, T.P. **Engenharia da película adquirida com trimetafosfato de sódio e peptídeos para a proteção contra a erosão do esmalte e da dentina.** 2025. Tese (Doutorado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2025.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de peptídios e trimetafosfato de sódio (TMP) sobre a modulação da película adquirida do esmalte (PAE) e seus efeitos sobre a erosão do esmalte e da dentina. No Subprojeto 1 (S1), avaliou-se o efeito *in vitro* de soluções contendo TMP, isolado ou associado aos peptídeos CaneCPI-5 (Cane), Stn15pSpS (Stat) e hemoglobina (Hb) na proteção do esmalte frente à desmineralização erosiva; no Subprojeto 2 (S2), foi avaliado *in vivo* o perfil proteômico da película adquirida do esmalte (PAE) tratada com Cane e TMP, sozinhos ou coadministrados; no Subprojeto 3 (S3), investigou-se o desempenho de géis contendo fluoreto (F), TMP e Cane, isolados ou associados, na proteção do desgaste erosivo da dentina *in vitro*. Em S1, blocos de esmalte bovino foram tratados com 15 soluções contendo os quatro ativos em diferentes associações, além de Elmex e água deionizada, seguidas de exposição à saliva humana (2 h). Após 3 desafios erosivos consecutivos (ácido cítrico a 1%, pH 3,5, 1 min/desafio), foi determinada a porcentagem de alteração de dureza de superfície (%ADS). Em S2, voluntários adultos realizaram bochechos com soluções contendo Cane, TMP, Cane+TMP, Elmex e água deionizada, e a PAE foi formada por 2 h, previamente à sua coleta e análise proteômica. Em S3, blocos de dentina bovina foram divididos em 9 grupos, de acordo com os géis de tratamento: Placebo (sem ativos), 4500 µg F/g (4500F), 9000 µg F/g (9000F), Cane 0,1 mg/mL, 5% TMP, Cane+TMP, Cane+4500F, TMP+4500F e Cane+TMP+4500F. Os géis foram aplicados uma vez (4 min), seguidos por 2 horas de imersão em saliva humana. Os espécimes foram então submetidos a 4 desafios erosivos diários (ERO, ácido cítrico, pH 2,4, 90 s) por 7 dias. Metade dos espécimes foi adicionalmente submetida à abrasão por escovação (ERO+ABR). A perda de tecido dentinário foi quantificada por microscopia confocal de campo amplo. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e teste de Student-Newman-Keuls (S1), teste t (S2) e ANOVA a 2 critérios e teste de Tukey (S3). Em S1, a formulação 3%TMP+Cane apresentou o maior efeito protetor, comparável ao controle positivo.

Concentrações menores de TMP associadas à Cane ou Stat também reduziram significativamente a %ADS, enquanto todas as combinações TMP+Hb resultaram nas maiores %ADS. Em S2, foram identificadas 191 proteínas na PAE, sem proteínas exclusivas entre os grupos. CaneCPI-5 isolada promoveu um aumento acentuado da Aminoacilase-1, enquanto TMP isolado modulou diversas proteínas salivares e estruturais, incluindo proteínas ricas em prolina, cistatina-C, actina e ATP sintase. A combinação CaneCPI-5+TMP elevou a Aminoacilase-1 e potencializou proteínas ricas em prolina e componentes estruturais, com diferenças mínimas em relação à CaneCPI-5 isolada. Em S3, as formulações 4500F+Cane e 4500F+TMP promoveram o menor desgaste, com efeito protetor superior ao promovido pelo gel 9000F sob condições erosivas mais severas (ERO+ABR). A associação dos 3 ativos não potencializou os efeitos do gel 4500F. De modo geral, os achados indicam que a eficácia do TMP em reduzir a perda mineral erosiva do esmalte está relacionada à concentração utilizada e sua compatibilidade com proteínas capazes de reforçar a película adquirida (S1). Em acréscimo, a coadministração de Cane e TMP está relacionada a maior atividade metabólica na PAE, com aumento na adsorção de proteínas tipicamente encontradas na PAE, incluindo capacidade de promover ligações proteína-proteína (S2). Por fim, a associação de TMP com CaneCPI-5 ou fluoreto aumentou significativamente a resistência da dentina frente a desafios erosivos (S3). Conjuntamente, os resultados sugerem uma ação dual do TMP na proteção contra desafios erosivos, atuando tanto na nucleação mineral como por modificações na composição da PAE. Sua combinação com Cane mostrou-se promissora para o controle do desgaste erosivo, demandando investigação adicional em condições *in situ* e clínicas.

Palavras-chave: Erosão Dentária; Película Dentária; Peptídeos; Polifosfato.

GENERAL ABSTRACT

Martins, T.P. **Engineering of the acquired pellicle with phosphate and/or peptides for the protection against enamel and dentin erosion.** 2025. Tese (Doutorado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2025.

The present study aimed to evaluate the effects of peptides and sodium trimetaphosphate (TMP) on the modulation of the acquired enamel pellicle (AEP) and their impact on enamel and dentin erosion. In Subproject 1 (S1), the *in vitro* effect of solutions containing TMP, alone or combined with the peptides CaneCPI-5 (Cane), Stn15pSpS (Stat), and hemoglobin (Hb), on enamel protection against erosive demineralization was assessed. In Subproject 2 (S2), the *in vivo* proteomic profile of the AEP treated with Cane and TMP, alone or co-administered, was evaluated. In Subproject 3 (S3), the performance of gels containing fluoride (F), TMP, and Cane, alone or in combination, in protecting dentin against erosive wear *in vitro* was investigated. In S1, bovine enamel blocks were treated with 15 solutions containing the four active agents in different combinations, in addition to Elmex and deionized water, followed by exposure to human saliva (2 h). After three consecutive erosive challenges (1% citric acid, pH 3.5, 1 min/challenge), the percentage of surface hardness change (%SHC) was determined. In S2, adult volunteers rinsed with solutions containing Cane, TMP, Cane+TMP, Elmex, or deionized water, and the AEP was allowed to form for 2 h prior to collection and proteomic analysis. In S3, bovine dentin blocks were divided into nine groups according to the treatment gels: placebo (no actives), 4500 µg F/g (4500F), 9000 µg F/g (9000F), Cane 0.1 mg/mL, 5% TMP, Cane+TMP, Cane+4500F, TMP+4500F, and Cane+TMP+4500F. The gels were applied once (4 min), followed by 2 h of immersion in human saliva. Specimens were then subjected to four daily erosive challenges (ERO; citric acid, pH 2.4, 90 s) for 7 days, with half of the specimens additionally exposed to toothbrushing abrasion (ERO+ABR). Dentin tissue loss was quantified by wide-field confocal microscopy. Data were analyzed using the Kruskal–Wallis and Student–Newman–Keuls tests (S1), t test (S2), or two-way ANOVA and Tukey’s test (S3). In S1, the 3% TMP+Cane formulation showed the greatest protective effect, comparable to the positive control. Lower TMP concentrations combined with Cane or Stat also significantly reduced %SHC, whereas all TMP+Hb combinations resulted in the highest %SHC. In S2, 191 proteins were identified in the AEP, with no exclusive proteins among groups. CaneCPI-5 alone

induced a marked increase in Aminoacylase-1, while TMP alone modulated several salivary and structural proteins, including proline-rich proteins, cystatin-C, actin, and ATP synthase. The CaneCPI-5+TMP combination increased Aminoacylase-1 and enhanced proline-rich proteins and structural components, with minimal differences compared with CaneCPI-5 alone. In S3, the 4500F+Cane and 4500F+TMP formulations resulted in the lowest dentin wear, showing greater protection than the 9000F gel under more severe erosive conditions (ERO+ABR). The association of all three actives did not potentiate the effects of the 4500F gel. Overall, the findings indicate that the efficacy of TMP in reducing erosive mineral loss of enamel depends on its concentration and its compatibility with proteins capable of reinforcing the acquired pellicle (S1). Additionally, the co-administration of Cane and TMP was associated with increased metabolic activity in the AEP, with enhanced adsorption of proteins typically found in the pellicle, including those involved in protein–protein interactions (S2). Finally, the association of TMP with CaneCPI-5 or fluoride significantly increased dentin resistance to erosive challenges (S3). Collectively, these results suggest a dual action of TMP in protection against erosive challenges, acting both in mineral nucleation and through modifications in AEP composition. Its combination with Cane appears promising for the control of erosive tooth wear, warranting further investigation under *in situ* and clinical conditions.

Keywords: Tooth Erosion; Dental Pellicle; Peptides; Polyphosphates.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figure 1 – Percentage of surface hardness loss after treatments of bovine 32
enamel blocks with the experimental solutions. Different letters show
significant differences among the treatments. Kruskal-Wallis and Student-
Newman-Keuls tests ($p < 0.05$, $n=12$). Deionized water = negative control;
Elmex® = positive control; Stat = Stn15pSpS peptide; Hb = hemoglobin; Cane
= CaneCPI-5; 0.5% TMP, 1% TMP, and 3% TMP = solutions containing
sodium trimetaphosphate at 0.5%, 1%, and 3%, respectively; 0.5% TMP+Hb,
1% TMP+Hb, and 3% TMP+Hb = TMP solutions combined with hemoglobin;
0.5% TMP+Stat, 1% TMP+Stat, and 3% TMP+Stat = TMP solutions
combined with the Stn15pSpS peptide; 0.5% TMP+Cane, 1% TMP+Cane,
and 3% TMP+Cane = TMP solutions combined with CaneCPI-5.

Capítulo 3

Figure 1 – Dentin wear after treatment with gels containing fluoride, sodium 61
trimetaphosphate, and CaneCPI-5, alone or in combination. Uppercase
letters indicate significant differences between Erosion and Abrasion;
lowercase letters indicate significant differences among the groups within
each challenge. Two-way Analysis of Variance (ANOVA) followed by Tukey's
test ($p < 0.05$; $n=10$). Placebo = gel without active agents; 4500F and 9000F
= fluoride gels containing 4500 and 9000 $\mu\text{g F/g}$, respectively; Cane = gel
containing CaneCPI-5; TMP = gel containing sodium trimetaphosphate;
Cane+TMP = gel combining CaneCPI-5 and TMP; Cane+4500F = CaneCPI-
5 gel with 4500 $\mu\text{g F/g}$; TMP+4500F = TMP gel with 4500 $\mu\text{g F/g}$;
Cane+TMP+4500F = gel containing CaneCPI-5, TMP, and 4500 $\mu\text{g F/g}$.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Table 1 – Quantitative changes in the abundance of acquired enamel pellicle proteins among treatment groups	44
---	----

Anexos

Table 1 – Proteins identified in the acquired enamel pellicle after treatments	70
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABR	Abrasion/Abrasão
%ADS	Surface hardness change/Alteração de dureza de superfície
ANOVA	Analysis of Variance/Análise de Variância
CaF₂	Calcium Fluoride/Fluoreto de Cálcio
CaneCPI-5	Sugar-cane cystatin /cistatina de cana-de-açúcar
°C	Degrees Celsius/Graus Celsius
DEE	Erosive tooth wear/Desgaste dental erosivo
ERO	Erosion/Erosão
F	Fluoride/Fluoreto
h	Hour/Hora
Hb	Hemoglobin/Hemoglobina
L	Liter/Litro
M	Molar
mg	Milligram/Miligrama
mL	Milliliter/Mililitro
mm	Millimeter/Milímetro
MMPs	Matrix Metalloproteinases/Metaloproteinases da Matriz
NaF	Sodium Fluoride/Fluoreto de sódio
nm	Nanometer/Nanômetro
p	Probability/Probabilidade
PAE	Acquired enamel pellicle/Película Adquirida do Esmalte

pH	Hydrogenionic Potential /Potencial Hidrogeniônico
s	Seconds/segundos
SD	Standard Deviation/Desvio padrão
SH	Surface hardness
%SHC	Surface hardness change/Alteração de dureza de superfície
Stn15pSpS	Statherin-derived peptide/Peptídeo derivado da estaterina
TISAB	Total Ionic Strength Adjustment Buffer/Tampão Ajustador de Força Iônica
TMP	Sodium Trimetaphosphate/Trimetafosfato de sódio
µg	Microgram/Micrograma
µg F/g	Microgram of fluoride per gram/Micrograma de fluoreto por grama
µm	Micrometer/Micrômetro
µM	Micromolar/Micro molar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	21
2. OBJETIVO GERAL	24
3. CAPÍTULO 1	25
3.1 Abstract.....	26
3.2 Introduction	26
3.3 Methodology	27
3.4 Results.....	29
3.5 Discussion	29
3.6 Conclusion.....	30
3.7 Acknowledgments	30
3.8 References	31
4. CAPÍTULO 2	33
4.1 Abstract.....	34
4.2 Introduction	34
4.3 Methodology	35
4.4 Results.....	37
4.5 Discussion	37
4.6 Conclusion.....	41
4.7 Acknowledgments	41
4.8 References	41
5. CAPÍTULO 3	47
5.1 Abstract.....	48
5.2 Introduction	49
5.3 Methods and Materials	50
5.4 Results.....	53
5.5 Discussion	53
5.6 Conclusion.....	57
5.7 Acknowledgments	57
5.8 References	57
6. CONCLUSÃO GERAL	62
7. ANEXOS.....	65

1. INTRODUÇÃO GERAL

O declínio da prevalência de cárie dentária tem permitido maior atenção às alterações não cariosas que acometem os tecidos dentários duros. Entre essas condições, destaca-se a erosão dentária, caracterizada por um processo químico, sem envolvimento bacteriano, que resulta na dissolução da estrutura dentária devido à exposição crônica a ácidos [Schlueter et al., 2020]. Esses ácidos podem ter origem extrínseca, como bebidas industrializadas, frutas cítricas e exposição a vapores (como no caso de indústrias de galvanização), ou intrínseca, decorrente de episódios de refluxo gastroesofágico ou vômitos. A exposição crônica a esses agentes diminui a resistência do tecido dental aos impactos mecânicos, culminando em uma perda cumulativa da superfície, quadro denominado desgaste dentário erosivo (DDE) [Kanzow et al., 2016; Schlueter et al., 2020]. Estima-se que o DDE afete, mundialmente, 30–50% dos dentes decíduos e 20–45% da dentição permanente, além de atingir cerca de 30% dos adolescentes [Salas et al., 2015; Murakami et al., 2016; Schlueter et al., 2018].

Diante dessa etiologia, compreender o comportamento dos tecidos dentários torna-se essencial. O esmalte, altamente mineralizado e composto predominantemente por cristais de hidroxiapatita, apresenta elevada dureza, porém ausência de capacidade de regeneração, tornando-o suscetível à desmineralização superficial quando exposto a ácidos [Shellis et al., 2010]. A dentina, por sua vez, menos mineralizada e rica em matriz colágena, possui maior permeabilidade devido à presença de túbulos dentinários e, após o desafio ácido, forma uma camada de matriz orgânica parcialmente desmineralizada, vulnerável à remoção por abrasão e à degradação por enzimas endógenas como metaloproteinases da matriz (MMPs) e catepsinas [Buzalaf et al., 2015; Zarella et al., 2015]. Tais características tornam a dentina mais sensível ao desgaste erosivo do que o esmalte, além de menos responsiva aos mecanismos protetores clássicos, reforçando a necessidade de estratégias capazes de atuar de maneira diferenciada em ambos os substratos [Shellis et al. 2010; Buzalaf et al., 2015; Zarella et al., 2015].

O tratamento e controle da erosão dentária envolvem orientações de dieta e hábitos, bem como a utilização de produtos tópicos. Considerando que, diferentemente do observado para a cárie dentária, o flúor (F) apresenta efeito menos

proeminente na redução do desgaste erosivo [Lussi et al., 2019; Magalhães et al., 2011], diversas abordagens têm sido propostas para potencializar sua ação. Entre elas, destaca-se a adição de trimetafosfato de sódio (TMP) a formulações fluoretadas, demonstrando um aumento significativo de seus efeitos protetores contra a erosão do esmalte e o desgaste dental erosivo [Moretto et al., 2013; Danelon et al., 2018; Danelon et al., 2020]. Esses efeitos estão associados principalmente à capacidade do TMP de adsorver-se ao esmalte e de modificar a energia livre de superfície do substrato, aumentando a disponibilidade de sítios doadores de elétrons e favorecendo a adsorção de Ca^{2+} e de PO_4^{3-} [Takeshita et al., 2011; Amaral et al., 2018; Nallin et al., 2021].

Além disso, a saliva também exerce um papel determinante na modulação do processo erosivo ao diluir e neutralizar ácidos, manter a supersaturação em relação ao mineral dentário e fornecer proteínas que, ao se adsorverem rapidamente à superfície dental, originam a película adquirida do esmalte (PAE) [Dipalma et al., 2023]. Longe de ser uma barreira passiva, a PAE constitui uma estrutura altamente organizada, cuja composição proteica define sua capacidade de proteção diante do desafio ácido [Siqueira et al., 2012; Dipalma et al., 2023]. Proteínas como estaterinas, proteínas ricas em prolina (PRPs) e cistatinas apresentam elevada afinidade pela hidroxiapatita e desempenham funções fundamentais, desde a estabilização de íons cálcio e fosfato até a inibição de enzimas proteolíticas envolvidas na degradação da matriz dentinária [Delecrode et al., 2015; Taira et al., 2020; Dipalma et al., 2023]. A integridade dessa película reduz o fluxo de íons entre a superfície dental e o meio ácido, diminuindo a taxa de dissolução mineral e retardando o avanço do desgaste [Siqueira et al., 2012; Dipalma et al., 2023]. Assim, potencializar a formação da PAE, seja por proteínas naturais ou peptídeos bioinspirados, representa uma estratégia promissora para fortalecer os mecanismos endógenos de defesa contra a erosão dental [Ferrari et al., 2025].

Nesse contexto, diversas moléculas análogas às proteínas salivares têm sido estudadas. A CaneCPI-5, uma cistatina derivada da cana-de-açúcar, apresenta elevada afinidade pelo esmalte e reconhecido efeito protetor contra a cárie e a erosão [Santiago et al., 2017; Araújo et al., 2024]. Da mesma forma, o peptídeo derivado da estaterina duplamente fosforilado em serina (Stn15pSpS) exibe grande resistência à

remoção por ácidos extrínsecos [Taira et al., 2020]. A hemoglobina também merece destaque, uma vez que apresenta alta afinidade pela hidroxiapatita, a qual aumenta à medida que o pH diminui [Martini et al., 2020].

Considerando que o TMP modifica a energia livre de superfície do esmalte, é plausível que este ciclofosfato possa influenciar a adsorção dessas proteínas e peptídeos, seja por ação sinérgica, indiferente ou antagônica. À luz dessas evidências, torna-se pertinente investigar possíveis sinergias entre TMP e moléculas com reconhecido potencial de reforçar a película adquirida. Assim, o presente estudo buscou responder às seguintes perguntas: (1) O tratamento da superfície dentária com TMP, isoladamente ou associado a Cane, Stat ou Hb, aumenta a resistência do esmalte à desmineralização erosiva?; (2) A utilização *in vivo* de soluções contendo Cane, TMP e a combinação destes altera o perfil proteômico da PAE?; e (3) O tratamento da dentina com Cane, isoladamente ou associada ao TMP e/ou ao flúor, aumenta a resistência ao desgaste erosivo?

6. CONCLUSÃO GERAL

Os estudos apresentados nesta tese demonstram que a associação de TMP a CaneCPI-5 potencializa a resistência do esmalte e da dentina a desafios erosivos, enquanto sua associação com as demais proteínas (Stat e Hb) promoveu efeito antagonista. A formulação 3%TMP+CaneCPI-5 apresentou proteção equivalente ao controle positivo em esmalte, enquanto, em dentina, as combinações 4500F+CaneCPI-5 e 4500F+TMP superaram inclusive o gel contendo 9000F. Em acréscimo, a coadministração de Cane e TMP está relacionada a maior atividade metabólica na PAE, com aumento na adsorção de proteínas tipicamente encontradas na PAE, incluindo capacidade de promover ligações proteína-proteína. Conjuntamente, os resultados sugerem uma ação dual do TMP na proteção contra desafios erosivos, atuando tanto na nucleação mineral como por modificações na composição da PAE.

De modo geral, os achados reforçam que a eficácia do TMP depende da concentração aplicada e de sua compatibilidade com proteínas capazes de reforçar a película adquirida e indicam que tais combinações representam alternativas promissoras para o controle do desgaste erosivo, demandando investigação adicional em condições *in situ* e clínicas.

REFERÊNCIAS GERAIS

- Amaral JG, Pessan JP, Souza JAS, Moraes JCS, Delbem ACB. Cyclotriphosphate associated to fluoride increases hydroxyapatite resistance to acid attack. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018 Oct;106(7):2553-2564. doi: 10.1002/jbm.b.34072.
- Araujo TT, Dionizio A, Carvalho TS, Debortolli ALB, Vertuan M, de Souza BM, Camara JVF, Henrique-Silva F, Chiaratti M, Santos A, Alves L, Ferro M, Magalhães AC, Buzalaf MAR. Acquired pellicle and biofilm engineering with CaneCPI-5: Insights from proteomic and microbiomics analysis. *Arch Oral Biol*. 2024 Oct;166:106025. doi: 10.1016/j.archoralbio.2024.106025.
- Buzalaf MA, Charone S, Tjäderhane L. Role of host-derived proteinases in dentine caries and erosion. *Caries Res*. 2015;49:30-7.
- Danelon M, Pessan JP, Santos VRD, Chiba EK, Garcia LSG, de Camargo ER, Delbem ACB. Fluoride toothpaste containing micrometric or nano-sized sodium trimetaphosphate reduces enamel erosion *in vitro*. *Acta Odontol Scand*. 2018 Mar;76(2):119-124.
- Danelon M, Pessan JP, Prado KM, Ramos JP, Emerenciano NG, Moretto MJ, Martinhon CCR, Delbem ACB. Protective Effect of Fluoride Varnish Containing Trimetaphosphate against Dentin Erosion and Erosion/Abrasion: An *in vitro* Study. *Caries Res*. 2020;54(3):292-296. doi: 10.1159/000505179. Epub 2020 Jan 22.
- Delecrode TR, Siqueira WL, Zaidan FC, Bellini MR, Moffa EB, Mussi MC, Xiao Y, Buzalaf MA. Identification of acid-resistant proteins in acquired enamel pellicle. *J Dent*. 2015 Dec;43(12):1470-5. *BMC Oral Health*. 2016 Feb 1;16:12.
- Dipalma G, Inchingolo F, Patano A, Guglielmo M, Palumbo I, Campanelli M, Inchingolo AD, Malcangi G, Palermo A, Tartaglia FC, Minetti E, Inchingolo AM. Dental erosion and the role of saliva: a systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2023 Nov;27(21):10651-10660. doi: 10.26355/eurrev_202311_34345.
- Ferrari CR, Hannig M, Buzalaf MAR. Acquired pellicle engineering: a fascinating approach to prevent demineralization. *J Appl Oral Sci*. 2025 May 2;33:e20240359. doi: 10.1590/1678-7757-2024-0359.
- Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int*. 2016;47:275-8.
- Lussi A, Buzalaf MAR, Duangthip D, Anttonen V, Ganss C, João-Souza SH, Baumann T, Carvalho TS. The use of fluoride for the prevention of dental erosion and erosive tooth wear in children and adolescents. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019 Dec;20(6):517-527. 2014 Jun;77(6):439-45.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci*. 2011;22:158-170.
- Moretto MJ, Delbem AC, Manarelli MM, Pessan JP, Martinhon CC. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion: an *in situ/ex vivo* study. *J Dent*. 2013;41:1302-1306.
- Murakami C, Tello G, Abanto J, Oliveira LB, Bonini GC, Bönecker M. Trends in the prevalence of erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Int J Paediatr Dent*. 2016 Jan;26(1):60-5.

Nalin EKP, Danelon M, da Silva ES, Hosida TY, Pessan JP, Delbem ACB. Surface Free Energy, Interaction, and Adsorption of Calcium and Phosphate to Enamel Treated with Trimetaphosphate and Glycerophosphate. *Caries Res.* 2021;55(5):496-504. doi: 10.1159/000518943.

Salas MM, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. The estimated prevalence of erosive tooth wears in permanent teeth of children and adolescents: an epidemiological systematic review and meta- regression analysis. *J Dent.* 2015 Jan;43(1):42-50.

Santiago, A.C., Z.N. Khan, M.C. Miguel, C.C. Gironda, A. Soares-Costa, V.T. Pela, A.L. Leite, J.M. Edwardson, M.A.R. Buzalaf and F. Henrique-Silva (2017). "A New Sugarcane Cystatin Strongly Binds to Dental Enamel and Reduces Erosion." *J Dent Res* 96(9): 1051-1057.

Schlueter N, Luka B. Erosive tooth wear - a review on global prevalence and its prevalence in risk groups. *Br Dent J.* 2018;224(5):364-370.

Schlueter N, Amaechi BT, Bartlett D, Buzalaf MAR, Carvalho TS, Ganss C, et al. Terminology of erosive tooth wear: consensus report of a workshop organized by the ORCA and the Cariology Research Group of the IADR. *Caries Res.* 2020;14:15.

Shellis RP, Barbour ME, Jones SB, Addy M. Effects of pH and acid concentration on erosive dissolution of enamel, dentine, and compressed hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2010 Oct;118(5):475-82. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00763.x. PMID: 20831581.

Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE. 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.

Taira EA, Carvalho G, Ferrari CR, Martini T, Pelá VT, Ventura TMO, Dionizio AS, Crusca E, Marchetto R, Buzalaf MAR. Statherin-derived peptide protects against intrinsic erosion. *Arch Oral Biol.* 2020 Nov;119:104890. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104890. Epub 2020 Aug 28. PMID: 32919104.

Takeshita EM, Exterkate RA, Delbem AC, ten Cate JM. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel de- and remineralization *in vitro*. *Caries Res.* 2011;45(5):494-7. doi: 10.1159/000331209.

Zarella BL, Cardoso CA, Pelá VT, Kato MT, Tjäderhane L, Buzalaf MA. The role of matrix metalloproteinases and cysteine-cathepsins on the progression of dentine erosion. *Arch Oral Biol.* 2015 Sep;60(9):1340-5. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.06.011. Epub 2015 Jun 22. PMID: 26134516.