SÁVIO JOSÉ CARDOSO BEZERRA

Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme

São Paulo

2016

SÁVIO JOSÉ CARDOSO BEZERRA

Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Dentística), para obter o título de Mestre em Ciências**.**

Orientadora: Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin

São Paulo

2016

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

Catalogação-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Bezerra, Sávio José Cardoso.
Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme / Sávio José Cardoso Bezerra ; orientador Taís Scaramucci Forlin. -- São Paulo, 2016.
87 p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
Versão corrigida

1. Erosão de dente. 2. Polímeros. 3. Fluoretos. I. Forlin, Taís Scaramucci. II. Título.

Bezerra SJC. Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 01/11/2016

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a).Alessandra Bühler Borges

Instituição: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos (ICT-SJC) da Unesp Julgamento: Aprovado

Prof(a). Dr(a) Daniela Prócida Raggio

Instituição: Faculdade de Odontologia da USP Julgamento: Aprovado

Prof(a). Dr(a). Patricia Moreira de Freitas

Instituição: Faculdade de Odontologia da USP Julgamento: Aprovado

Dedico esse trabalho aos meus pais **Orly e Ana**, por sempre acreditarem que a educação era a base de tudo. O incentivo de vocês é fundamental para que eu alcance todas as minhas realizações.

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial aos meus pais **Orly** e **Ana Conceição**, que sempre me apoiaram e lutaram sem medir esforços, para realizar todos os meus sonhos. Obrigado por estarem sempre ao meu lado e por sonharem junto comigo esse sonho, deixar vocês orgulhosos sempre será meu objetivo.

Aos meus irmãos **Alonso** e **Solon**, que apesar da distância geográfica, sempre torceram e vibraram com cada vitória. Ao meu irmão **Saulo**, que é meu melhor amigo, e viveu todos os momentos desse trabalho ao meu lado, me dando forças e ouvindo minhas angústias, além de sempre torcer e vibrar com as conquistas. Obrigado por tornar São Paulo mais fácil e melhor de se viver.

Às minhas avós **Maria** e **Zizi**, que a cada visita minha em Belém, e a cada conversa, me passavam seus conhecimentos e experiências. Vocês são exemplos de mulheres, mães e avós pra mim! Vocês são o alicerce da nossa família.

Aos meus tios e tias, em especial minha madrinha **Tita** e minha **Tia Fátima**, que sempre foram como mães pra mim, a dedicação de vocês nos seus respectivos trabalhos sempre foi fonte de inspiração pra mim. Obrigado por todo apoio e toda ajuda nesses anos.

Aos meus sobrinhos e afilhados, **Solonzinho**, **Cauã**, **Lippe**, **Lara**, **Lucca**, **Théo**, **Rafael** e **Ana Caroline**, ver o sorriso de vocês, a pureza no olhar e também receber cada abraço foi meu combustível para continuar lutando e indo atrás do meu sonho, mesmo nos dias mais difíceis. Ter vocês sempre por perto é essencial pra mim. Amo muito vocês!

Aos meus primos e primas, em especial **Fernandinho**, **Renata** e **Paula**, que são sem dúvidas meus melhores amigos da vida. A gente consegue estar perto mesmo estando longe, porque nossos corações estão ligados pra sempre, somos mais que primos, somos irmãos! Vocês fazem parte de cada conquista minha, e dividi-las com vocês é minha maior alegria. Obrigado por tudo, sempre!

Aos meus amigos da vida **Arthur**, **Leandro**, **Beto**, **João**, **Thainá**, **Lorena**, **Rayssa**, **Carol**, **Steffani**, **Paula** e **Camila**. As maiores aventuras da minha vida eu vivi ao lado de vocês, obrigado por me apoiarem em todas as minhas decisões, torcerem e acreditarem em mim, até quando nem eu acreditava. Vocês são fundamentais na minha vida e estarão sempre comigo, onde quer que vá.

Aos amigos que fiz na graduação **Mari**, **Lúcia**, **Fernando** e **Keury**. Começar essa etapa sem vocês por perto foi difícil, mas vocês se fizeram presente em todos os momentos em que estive em São Paulo. Sem dúvida o apoio e a torcida de vocês foram fundamentais para essa conquista.

À todos os meus amigos da pós-graduação, em especial à **Brunna**, **Carlos**, **Eric**, **Gabi**, **Paula** e **Tamile**, sem dúvida vocês foram minha família não só dentro da USP, mas em São Paulo. Obrigado por toda ajuda para que eu conseguisse realizar esse trabalho. Obrigado por tornarem meu dia a dia mais divertido, pela parceria, pelos momentos de descontração, pelos rolês, e também todos os ensinamentos trocados, cada conversa que tivemos foram enriquecedoras tanto pra mim quanto para esse trabalho. Quero estar junto com vocês para sempre, independente de onde cada um estiver. Vocês são amigos que vou levar pra vida toda!

Aos amigos **Lais**, **Rodrigo** e **Marita**, obrigado por todos os momentos juntos, por conseguirem fazer com que, mesmo no meio de todo estresse e caos da pós-graduação, eu me desligasse de tudo e vivesse momentos leves e alegres do lado de vocês. Vocês tornaram meus dias em São Paulo bem mais fáceis.

À **Samira**, por todo ensinamento e dicas passado desde o primeiro de que nos conhecemos, esse trabalho só saiu graças a você! Obrigado por toda generosidade e por nunca hesitar me ajudar ou qualquer outra pessoa. Você é um exemplo pra mim.

À minha orientadora **Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin**, por acreditar e confiar no meu trabalho e por sempre lutar por mim. Obrigado por todos os ensinamentos passados, não só de profissionais, mas por todas as conversas que tivemos. Você

sem dúvida é uma pessoa que admiro e me espelho, seguir seus passos é uma honrar!

À **Profa. Dra. Idalina Vieira Aoki**, e todo Laboratório de Eletroquímica e Corrosão do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP por toda colaboração com esse projeto, além de sempre atender de prontidão e esclarecer minhas dúvidas e questionamento, termino esse trabalho sabendo muito mais de química, graças a vocês.

A todos os **voluntários** que doaram saliva e contribuíram para a realização desse trabalho. A paciência e a colaboração de vocês foram fundamental, muito obrigado! Em especial à **Alana**, que realizou os últimos meses de coleta de saliva, para que eu conseguisse realizar esse trabalho em tempo hábil, muito obrigado, sua ajuda foi primordial!

A todos os **professores do Departamento de Dentística**, por todos os ensinamentos e conselhos transmitidos, vocês foram sem dúvidas, grandes mestres e totalmente responsáveis pela minha formação profissional.

Às minhas alunas de Iniciação Científica **Letícia**, **Laís** e **Raquel**, que me deram a oportunidade de vivenciar um pouco a arte de ensinar, além de terem me ensinado muito também. Obrigado por toda ajuda nesse e em todos os trabalhos, trabalhar com vocês foi muito bom!

Aos **funcionários do Departamento de Dentística**, principalmente **Soninha**, por toda ajuda e conversas nas longas horas que passei dentro do laboratório. Se não fosse a ajuda de vocês tudo seria muito mais difícil e demorado.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, representada pelo seu diretor Prof. Dr. Waldyr Antônio Jorge.

À **Universidade de São Paulo**, na pessoa do Magnífico Reitor, Prof. Dr. Marco Antônio Zago.

À **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo apoio financeiro.

Muito obrigado!

"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê."

Arthur Schopenhauer

RESUMO

Bezerra SJC. Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Corrigida.

A erosão é um processo que resulta na perda superficial dos tecidos duros dentários pela ação de ácidos não bacterianos. A associação de copolímeros formadores de filme com produtos fluoretados pode ser uma estratégia promissora na prevenção da erosão. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio (F: 225 ppm F^-), cloreto de estanho (Sn: 800 ppm Sn^{2+}), copolímeros formadores de filme (Gantrez, PGA, Plasdone e CMC) e algumas de suas combinações. A água deionizada foi utilizada como controle negativo. As soluções foram testadas em um modelo de erosão-remineralização, utilizando espécimes de esmalte e dentina, obtidos de incisivos bovinos (n=10 para cada substrato). A ciclagem consistia de imersão em saliva humana por 2 h, para permitir a formação da película adquirida, imersão em solução de ácido cítrico a 0,3% (pH=2,6), por 5 min, seguida de 120 min de exposição em saliva humana clarificada. Esse procedimento foi repetido 4 vezes ao dia, por 5 dias. O tratamento com as soluções teste foi realizado 2 vezes ao dia, 60 min após o primeiro e o último desafios erosivos, por 2 min. A perda superficial dos espécimes (PS, em µm) foi avaliada com um perfilômetro ótico e dados submetidos aos testes de ANOVA a 2 fatores e Tukey (α=0,05). Em esmalte, todos os copolímeros isoladamente exibiram uma menor PS quando comparados com a água, com exceção do PGA. Todas as soluções contendo F apresentaram menor PS em relação ao controle. O PGA foi o único copolímero capaz de melhorar o efeito protetor do F. Nenhum dos copolímeros foi capaz de melhorar o efeito protetor do F+Sn. Para dentina, isoladamente, apenas o Gantrez reduziu significativamente a PS quando comparado ao controle. Apesar de todas as soluções contendo F apresentarem menor PS em relação a água, nenhum copolímero foi capaz de potencializar o efeito das soluções contendo F ou F+Sn.

Palavras-chave: Erosão dentária. Polímeros. Fluoretos.

ABSTRACT

Bezerra SJC. Evaluation of the anti-erosive effect of solutions containing sodium fluoride, tin chloride and some film-forming copolymers [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Corrigida.

Erosive tooth wear is a process that results in the loss of dental hard tissues, caused by non-bacterial acids. The association between film-forming agents with fluoride products can be a promising strategy to prevent erosion. The aim of this study is to evaluate the anti-erosive effect of solutions containing sodium fluoride (225 ppm F^-), stannous chloride (800 ppm Sn^{2+}), film-forming copolymers (Gantrez, PGA, Plasdone and CMC), and combinations thereof. Deionized water was used as a negative control. The solutions were tested in an erosion-remineralization cycling model, using enamel and dentin specimens obtained from bovine incisors (n=10 for each substrate). Cycling consisted of 2 h immersion in human saliva to allow the formation of the salivary acquired pellicle, immersion in 0.3% citric acid solution (pH = 2.6) for 5 min, followed by 120 min of exposure to clarified human saliva. This procedure was repeated 4 times a day, for 5 days. Treatment with test solutions was carried out 2 times a day, 60 min after the first and last erosive challenges, for 2 min. Surface loss (SL, in µm) was evaluated with an optical profilometer, and data were submitted to 2-way Anova and Tukey tests (α = 0.05). In enamel, all copolymers alone showed lower SL than water, except for PGA. All solutions containing F presented less SL in relation to the control. PGA was the only copolymer capable of improving the protective effect of F. None of the copolymers was able to increase the protection of F + Sn. For dentin, only Gantrez significantly reduced SL when compared to the water. Although all solutions containing F demonstrated less SL compared to control, no copolymer was able to enhance the effect of the solutions containing F or F+Sn.

Keywords: Dental erosion. Polymers. Fluoride.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 - Secção dos espécimes 44

Figura 4.2 - Inclusão e polimento dos espécimes 44

Figura 4.3 - Fita posicionada na superfície polida dos espécimes 45

Figura 4.4 - Vibro Viscosímetro SV-10 47

Figura 4.5 - Perfilômetro ótico e uma imagem representativa da superfície dos espécimes escaneada com os parâmetros descritos 51

Gráfico 5.1 – Médias (DP) das PS em esmalte para soluções experimentais..... 55

Gráfico 5.2 – Médias (DP) das PS em dentina para soluções experimentais 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Soluções experimentais, concentrações e fabricantes dos reagentes utilizados. 46

Tabela 4.2- Sequência diária da ciclagem..... 50

Tabela 5.1- Viscosidade dinâmica das soluções..... 53

Tabela 5.2- Médias (DP) da PS de esmalte (em µm) para as soluções experimentais 54

Tabela 5.3 - Médias (DP) da PS de dentina (em µm) para as soluções experimentais 56

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µm	micrometros
Al_2O_3	óxido de alumínio
AmF	fluoreto de amina
C	controle
CaF_2	fluoreto de cálcio
CEUA	Comitê de ética no Uso de Animais
CMC	Carboximetil celulose
DP	desvio padrão
F	flúor
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
g	grama
g/l	grama por litro
h	horas
KOH	hidróxido de potássio
M	milimolar
min	minutos
ml	mililitros
Mm	milímetro
mPa.s	Milipascal segundo
NaF	fluoreto de sódio
ºC	graus Célsius
PGA	Propileno Glicol Alginato
pH	potencial hidrogeniônico
ppm	proporção por milhão
PS	perda de superfície
s	segundos
Sn	estanho
SnF_2	fluoreto de estanho
TiF_4	tetrafluoreto de titânio
UPVC	cloreto de polivinil não plastificado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 25
2 REVISÃO DE LITERATURA 29
2.1 EROSÃO DENTÁRIA 29
2.1.1 Definição, características e etiologia 29
2.1.2 Estratégias preventivas 32
2.1.2.1 Gerais 32
2.1.2.2 Ação da saliva 33
2.1.2.3 Específicas 35
2.1.2.3.1 Produtos fluoretados 35
2.1.2.3.2 Alternativas ao flúor 37
2.1.3 Métodos para avaliação do desgaste erosivo 38
2.1.3.1 Perfilometria 39
3 PROPOSIÇÃO 41
4 MATERIAL E MÉTODOS 43
4.1 ASPÉCTOS ÉTICOS 43
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 43
4.3 PREPARO DOS ESPÉCIMES 43
4.4 SOLUÇÕES EXPERIMENTAIS 45
4.5 TESTE DE VISCOSIDADE 47
4.6 COLETA E ARMAZENAMENTO DE SALIVA HUMANA 48
4.7 CICLAGEM EROSÃO - REMINERALIZAÇÃO 49
4.8 AVALIAÇÃO DA PERDA SUPERFICIAL 50
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA 51
5 RESULTADOS 53
6 DISCUSSÃO 57
7 CONCLUSÃO 63
REFERÊNCIAS 65
APÊNDICE 79
ANEXOS 83

1 INTRODUÇÃO

O desgaste dentário por erosão é um processo multifatorial que está muito presente nos dias atuais e que, ao longo do tempo, pode influenciar o estado de saúde da dentição e comprometer o bem-estar do paciente.[1] A erosão dentária diz respeito a dissolução química dos tecidos duros dentários por ácidos ou por quelação, sem o envolvimento bacteriano.[2] Quando associada aos impactos físicos comumente presentes no ambiente bucal, como a abrasão por escovação, os dentes podem passar por um desgaste químico-mecânico, denominado de desgaste erosivo, acentuando ainda mais a perda de estrutura dental.[3]

Evidências mostram que o desgaste erosivo é uma condição comum em populações do mundo todo, com uma tendência pela presença de um maior número de lesões com o passar da idade.[4, 5] As lesões podem ser encontradas em todas as superfícies dentárias, mas há uma preferência pelas superfícies oclusais e vestibulares dos dentes de ambos os arcos, e também, pelas superfícies palatinas dos incisivos superiores.[5]

Os ácidos responsáveis pela erosão podem ter origem intrínseca ou extrínseca.[6] O ácido de origem intrínseca é principalmente representado pelo ácido clorídrico presente no suco gástrico, que pode atingir a cavidade bucal com frequência nos casos de distúrbios gástricos, como refluxo, ou em doenças que causam vômitos recorrentes, como bulimia.[6] Os ácidos de origem extrínseca estão presentes nos alimentos e bebidas ácidas, mas também existem relatos de erosão por medicamentos e gases presentes em ambientes, como nas indústrias químicas.[7, 8]

Clinicamente, o processo de erosão se apresenta como uma perda inicial de brilho na superfície do dente, seguida de planificação das estruturas convexas. Com a contínua exposição aos ácidos, concavidades se formam nas superfícies lisas e escavações são observadas nas superfícies incisais e oclusais.[9] As restaurações parecem se elevar em relação aos tecidos dentários adjacentes e os dentes ficam com uma coloração mais amarelada.[10] Em estágios mais avançados, o desgaste erosivo pode causar comprometimento severo da morfologia dentária, com prejuízo estético e funcional, com a perda da dimensão vertical.[10, 11] Além disso, a exposição da dentina pode resultar em sintomatologia dolorosa, a qual é chamada de hipersensibilidade dentinária.[11]

Existem alguns fatores biológicos importantes que podem modular a progressão do processo de erosão, com grande destaque para a saliva.[12] A saliva é responsável pela diluição, tamponamento e limpeza dos ácidos erosivos no ambiente bucal. Ela também contém íons cálcio, fosfato e flúor, que podem reduzir a taxa de desmineralização e aumentar a de remineralização.[13] Por fim, a saliva exerce um papel na formação da película adquirida, uma membrana orgânica composta por proteínas, peptídeos, lipídios e outras macromoléculas,[14, 15] que atua como uma barreira protetora, evitando o direto contato dos ácidos com a superfície dentária.[16] No entanto, esse efeito protetor é limitado, visto a grande frequência de desafios erosivos aos quais os pacientes de alto risco para erosão são submetidos.[17]

Para prevenir o aparecimento de novas lesões e controlar a progressão das já existentes, algumas medidas preventivas devem ser implementadas. A primeira e mais importante é a redução da frequência de exposição aos ácidos, seja através de aconselhamento dietético, no caso de erosão extrínseca, seja por estabelecimento de adequado tratamento médico, no caso de erosão intrínseca.[18] Paralelamente, também podem ser implementadas estratégias para aumentar a resistência dentária aos ácidos erosivos, [19] como, por exemplo, através da aplicação tópica de produtos fluoretados. [20-23]

O flúor como agente anti-erosivo tem sido investigado sob diferentes formas (fluoreto de sódio, fluoreto de amina, fluoreto de estanho e tetrafluoreto de titânio), apresentações (enxaguatórios, dentifrícios, géis e vernizes) e concentrações.

Em relação ao tipo de fluoreto, compostos monovalentes, como o fluoreto de sódio (NaF) e o fluoreto de amina (AmF), protegem o substrato dentário contra erosão provavelmente pela formação de precipitados semelhantes ao CaF_2. Esses precipitados atuariam como uma camada de sacrifício a ser dissolvida durante o desafio erosivo, evitando, temporariamente, a dissolução do tecido dentário subjacente. Adicionalmente, esses precipitados também liberariam íons cálcio e flúor para o meio, influenciando positivamente o processo de desmineralização/remineralização.[18, 24] No entanto, sabe-se que a formação de compostos semelhantes ao CaF_2 depende da concentração e do pH do produto, bem como de sua frequência de aplicação.[25, 26] Assim, há uma maior deposição com o aumento da concentração e da frequência de aplicação, e com a diminuição do pH.[26] As formulações neutras contendo compostos fluoretados monovalentes em concentrações baixas a moderadas, como os dentifrícios e alguns enxaguatórios,

possuem, portanto, uma limitada eficácia na prevenção do desgaste erosivo.[20, 27-29] Já as formulações ácidas e mais concentradas podem promover um benefício maior.[24]

Compostos fluoretados polivalentes de cátions metálicos, como o fluoreto de estanho (SnF_2) e o tetrafluoreto de titânio (TiF_4), vem demonstrando uma proteção superior contra o desgaste erosivo, com maior evidência para as formulações contendo a combinação de flúor e estanho.[24] Além da formação de material semelhante ao CaF_2, o estanho pode interagir com a superfície do dente e formar uma camada rica em Sn, que mostrou-se ser mais ácido resistente.[30, 31] Adicionalmente, o estanho pode ser incorporado na estrutura dentária, aumentando sua resistência à desmineralização.[32, 33]

No entanto, deve ser ponderado que, mesmo os produtos contendo a associação de flúor com estanho devem ser aplicados frequentemente, pois sua proteção pode ter curta duração, considerando o ambiente altamente erosivo no qual eles são comumente expostos. Nesse sentido, há uma preferência por produtos de uso caseiro, como os enxaguatórios bucais.[24] Os enxaguatórios são ótimas opções para a complementação da higiene oral diária, pois são de fácil uso, o que permite uma aplicação frequente.[24, 34]

Como alternativa aos fluoretos para o controle do desgaste erosivo, existem alguns copolímeros formadores de filme, que possuem afinidade com as superfícies dentárias, onde podem ali se adsorver e formar uma camada protetora contra os ácidos.[35] Esses copolímeros já foram testados como aditivos de bebidas ou soluções ácidas,[36-39] ou como ingredientes ativos de dentifrícios e enxaguatórios bucais,[29, 31, 40-42] com resultados promissores. Ademais, estudos anteriores demonstraram que alguns desses polímeros também podem interagir positivamente com fluoretos, aumentando seus efeitos protetores.[41-43] Uma investigação recente mostrou que uma solução contendo a combinação de F, Sn e um polímero de fosfato de cadeia linear foi capaz de reduzir a perda de esmalte em 68%, diante da simulação de uma condição erosiva agressiva. Essa combinação exibiu proteção superior a uma solução contendo F e Sn somente.[31]

Diante desses resultados, é evidente que os copolímeros formadores de filme são uma opção interessante para serem utilizados em produtos de higiene bucal específicos para pacientes com alto risco de erosão dentária. No entanto, até o presente momento, existem poucos estudos testando a grande variedade desses

agentes disponível no mercado, principalmente, os possíveis efeitos sinérgicos da combinação deles com o F e o Sn.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EROSÃO DENTÁRIA:

2.1.1 Definição, características e etiologia

A erosão dentária é um processo multifatorial,[44] que induz a perda dos tecidos dentários duros por ácidos ou por quelação, sem o envolvimento bacteriano.[2] Migrando de uma condição de pouco interesse para um problema que ocupa um amplo espaço na pesquisa e na clínica diária, a erosão dentária vem sendo considerada um fator importante na saúde da dentição em longo prazo.[1]

Atualmente, as lesões de erosão dentária são comumente encontradas em populações do mundo todo, nas mais diversas faixas etárias.[5] No entanto, devido a maior facilidade de se recrutar crianças e adolescentes para os estudos, é justamente essa a população considerada na maioria dos relatos, sendo que levantamentos em adultos são escassos.[5] De acordo com uma revisão sistemática e meta análise recente, a prevalência estimada de desgaste erosivo nos dentes permanentes de crianças e adolescentes é 30,4%, sugerindo que é uma condição frequente.[45] Jaeggi e Lussi [5] após um levantamento bibliográfico de diferentes estudos epidemiológicos, observaram que quanto mais avançada a idade, maior o número de lesões presentes; as lesões também tendem a acometer o sexo masculino com mais frequência, além de possuírem uma predileção pela face palatina de incisivos superiores e pela face oclusal dos primeiros molares inferiores.

Os ácidos causadores da erosão podem ter origem intrínseca (como o ácido clorídrico proveniente do suco gástrico)[6] ou extrínseca (como os ácidos encontrados nos alimentos e bebidas).[44] O maior consumo de bebidas ácidas e refrigerantes nos últimos anos tem sido fortemente associado ao aumento do número de pessoas acometidas pela erosão dentária.[1, 46] Além de baixos valores de pH, o potencial erosivo das bebidas depende também do seu conteúdo mineral, da capacidade tampão e de sua habilidade de quelar cálcio.[47] De acordo, foi demonstrado que um suco de laranja modificado pela adição de cálcio possui menor potencial erosivo do que o suco original.[39] Larsen e Nyvad [48] avaliaram bebidas com diferentes capacidades tampão, e observaram que quanto maior a capacidade tampão, maior o

potencial erosivo dessa bebida. Esses autores também observaram que o pH dessas soluções influencia o seu efeito erosivo, onde soluções com pH mais baixos, causam lesões maiores.[48] Porém, é importante ressaltar que não existe um pH crítico fixo de uma solução para que ela cause erosão dentária. Para se determinar um pH crítico, é preciso saber o grau de solubilidade do mineral em estudo, por exemplo o esmalte, e a concentração dos minerais presentes na solução utilizada, o que varia para cada solução. Com base nessas concentrações, é então feito um cálculo e estabelecido o pH crítico.[1]

Com a exposição do esmalte a uma solução erosiva, seja ela constituída por ácidos fracos (como os ácidos cítrico ou acético) ou fortes (como o ácido clorídrico), inicialmente, essa solução tem que se difundir através da película adquirida, uma camada orgânica derivada de lipídeos e proteínas que recobre a superfície dental, para atingir os cristais de hidroxiapatita.[9, 49] Quando isso ocorre, há uma desmineralização superficial, resultando em perda de dureza[50-52] e aumento da rugosidade.[53] Vale ressaltar que essa desmineralização é centrípeta,[26] iniciando pela área interprismática e seguindo pela região central do prisma.[54] Na sequência, devido a difusão dos íons hidrogênio para o interior do esmalte, ocorre uma desmineralização numa camada inferior, próxima a superfície.[11] Com a contínua exposição a substâncias ácidas, o esmalte vai sendo perdido, camada por camada, progressivamente, até a exposição da dentina.[2, 11]

Na dentina, a desmineralização erosiva também ocorre na superfície do tecido, porém, ao menos *in vitro*, a perda mineral deixa uma camada remanescente intacta da matriz de colágeno insolúvel.[49] O efeito inicial da exposição de dentina à ação de ácidos se dá com a dissolução da interface entre as dentinas peritubular e intertubular, com subsequente perda da dentina peritubular, que resulta no aumento da luz do vaso.[55] Este padrão de dissolução persiste durante a desmineralização da sub superfície, formando uma camada de matriz de colágeno desmineralizada, que vai funcionar como uma proteção mecânica para a dentina residual subjacente, afetando assim as reações químicas entre esta e o meio bucal.[3, 56, 57] No caso de dentes decíduos, onde o esmalte é mais fino do que o permanente, o processo de erosão atinge a dentina mais rapidamente, levando a lesões de erosão mais avançadas. Porém, a diferença de susceptibilidade de crianças e adultos para erosão dentária parece ser pequena.[5]

Embora uma boa higiene oral seja imprescindível para o controle de doenças periodontais e da doença cárie, a ingestão de substâncias ácidas, seguida de escovação com produtos abrasivos, pode aumentar o desgaste da superfície dentária.[58] Isso porque o esmalte amolecido por substâncias ácidas pode ser facilmente removido pela ação mecânica da escovação.[59] Acredita-se que tal camada superficial amolecida possa ser remineralizada pela exposição à saliva[60, 61] previamente a um desafio mecânico, o que evitaria sua remoção.[60, 61] Mas para pacientes que alto risco de erosão dentária e com um elevado consumo de substâncias ácidas, o ideal é que a escovação seja adiada após o consumo dessas substâncias, na tentativa de diminuir a perda de esmalte.[62, 63]

Clinicamente, uma lesão de erosão dentária apresenta-se com uma perda de brilho da superfície. Na sequência, as áreas convexas dos dentes se tornam planas e algumas concavidades rasas aparecem. Nas faces oclusais, as cúspides perdem sua forma original, tornando-se arredondadas. As restaurações, quando presentes, apresentam um aspecto elevado em relação à superfície dental adjacente. Em casos mais severos, pode ocorrer a perda de quase toda morfologia dental, resultando na diminuição da dimensão vertical.[9, 64]

A erosão dentária também pode ser considerada um fator etiológico para a hipersensibilidade dentinária,[65] quando em estágios mais avançados a dentina se torna cada vez mais exposta, com um maior número de túbulos abertos e ampliados, resultando em tal sintomatologia dolorosa.[11, 66, 67] Hooper et al., [68] mostraram que a dentina é mais susceptível à ação dos abrasivos do que o esmalte, por isso, a exposição da dentina pode ser agravada com a escovação. West et al., [69] avaliaram a ação de dois diferentes abrasivos na dentina, mostrando que, juntamente com ação de substâncias ácidas, os dentifrícios mais abrasivos promoveram uma maior perda de estrutura e maior exposição de túbulos dentinários. Assim como Absi et al., [66] em um estudo in vitro, avaliaram o efeito da escovação e de alimentos ácidos na dentina, observando que a progressão da erosão vai levar a maior perda de tecido e abertura dos túbulos dentinários, e a ação da escovação vai provocar o processo de remoção da camada de esfregaço, o que pode induzir a hipersensibilidade dentinária.

2.1.2 Estratégias preventivas

Considerando que a erosão dentária é uma condição multifatorial, as medidas preventivas devem levar em consideração os fatores químicos, biológicos e comportamentais envolvidos na sua etiologia e patogênese.[7]

2.1.2.1 Gerais

Dentre as estratégias preventivas gerais, a intervenção em fatores comportamentais é de suma importância para o controle da erosão dentária.[59] A frequência do consumo de bebidas ácidas está diretamente associada ao aumento do risco de erosão dentária.[44, 70, 71] Assim, a principal estratégia para prevenir a erosão é a diminuição da exposição às substâncias ácidas. Além disso, o paciente deve ser orientado a evitar consumir alimentos e bebidas ácidas entre as refeições, para permitir que a saliva consiga realizar o processo de remineralização da superfície erodida. Importante ressaltar que não só a frequência, mas também, a duração do contato com o ácido, é uma importante variável no desenvolvimento da patologia.[19, 72] Muitas vezes, o fator etiológico é difícil de ser controlado, como no caso de pessoas que trabalham em meios ácidos, por exemplo, os trabalhadores de algumas indústrias químicas.[46] O uso de equipamentos de proteção individual e o respeito aos limites saudáveis estabelecidos pelas legislações é de primordial importância nesses casos.[73]

No caso da erosão causada pelo suco gástrico constantemente presente no meio bucal, como em pacientes com distúrbios gastresofágicos (refluxos e gastrite ácida), ou então, gerados a partir de desordens alimentares que envolvem vômitos crônicos, como a bulimia ou a anorexia, o encaminhamento ao médico especialista é imprescindível para eliminar ou diminuir os fatores etiológicos.[18]

Medidas de higiene oral também podem exercer um papel importante na progressão da erosão. Como já mencionado anteriormente, procedimentos abrasivos, como a escovação dentária, são capazes de remover estruturas fragilizadas da superfície desmineralizada dos dentes, sendo assim, orientações devem ser dadas aos pacientes em relação ao momento da escovação, a força empregada e o dentifrício utilizado[18, 74, 75] Hooper et al., [68] avaliaram a ação dos

abrasivos em esmalte e dentina erodida, mostrando que quanto maior a abrasividade dos dentifrícios, maior a quantidade de estrutura erodida removida, concordando com os achados de West et al., [69] Apesar de ainda ser um assunto controverso, para pacientes com risco de erosão, é recomendado evitar a escovação logo após a ingestão de ácido, esperando cerca de 30-60 min para a sua realização.[66, 67] A força exercida durante a escovação também é um fator que deve ser levado em consideração, pois o ideal é que pacientes realizem a escovação empregando o mínimo de força possível.[76] De forma geral, pacientes com lesões erosivas devem utilizar pastas fluoretadas, com baixa abrasividade, para sua higiene oral.[18]

Existem também estratégias preventivas que não dependem da cooperação do paciente, como por exemplo, a redução do potencial erosivo de bebidas ácidas com a adição de íons como cálcio, fosfato, flúor, ou até mesmo de metais, como o ferro.[18, 39, 77-80] Porém, ainda é necessário mais estudos para definir as concentrações mais adequadas desses compostos para cada tipo de bebida, evitando, assim, efeitos indesejáveis como alteração de sabor, efeitos sistêmicos para o paciente e falta de estabilidade.[18]

Sabemos que o baixo fluxo salivar, associado à uma diminuição da capacidade tampão da saliva, estão associados à erosão dentária.[81] Assim, para pacientes com baixo fluxo salivar, pode ser recomendado o uso de uma goma de mascar logo após um desafio erosivo, pois a goma teria a função de estimular o fluxo salivar.[82] Essa estimulação também pode ser realizada de forma sistêmica, com a ingestão de algumas drogas colinérgicas, como a pilocarpina.[18] Outra alternativa para esses pacientes seria aumentar a disponibilidade de flúor no meio bucal.[83]

2.1.2.2 Ação da saliva

A saliva exerce um importante papel modulador da erosão dentária, pois, devido às suas características e propriedades, ela pode promover a proteção ao tecido dentário durante um desafio erosivo,[44, 84] agindo de diferentes formas, tais como, diluindo e eliminando o agente erosivo da boca, neutralizando e tamponando

os ácidos erosivos, além de formar a película adquirida, que vai funcionar como uma barreira, evitando o contato direto do ácido com o dente.[11, 85]

A saliva é composta por substâncias inorgânicas e orgânicas. Entre as inorgânicas, o bicarbonato tem como função ser o principal responsável pela capacidade tampão salivar,[86] enquanto que o cálcio e fosfato são responsáveis pela determinação do grau de saturação da saliva.[2, 44, 87]

O processo de proteção da saliva contra a erosão se dá mesmo antes do desafio ácido, através do aumento do fluxo salivar, provocado por algum estímulo extra oral, olfativo ou visual.[88, 89] Muitos estudos já mostraram que existe uma forte associação entre a redução do fluxo salivar e da capacidade tampão com o aumento da erosão dentária.[28, 83, 90, 91] Foi demonstrado também, que os pacientes com erosão dentária e com fluxo salivar normal, possuem menores quantidades de cálcio, sódio e fosfato em sua saliva, quando comparados a pacientes saudáveis.[92]

A película adquirida é um filme orgânico e livre de bactérias,[87] que se forma rapidamente sobre tecidos duros e moles poucos min após sua remoção pela escovação, dissolução química ou profilaxia.[12] Ela é composta de glicoproteínas, proteínas, lipídios e enzimas.[93] A película tem uma função importante na etiologia da erosão dentária, pois ela atua como uma barreira superficial seletiva, evitando o contato direto entre o ácido e a superfície dentária.[18] A presença de certas proteínas salivares recobrindo o esmalte e envolvidas na lubrificação, capacidade tampão e remineralização, também atuam minimizando a erosão,[87] sendo a mucina uma glicoproteína da película adquirida muito importante, devido à sua habilidade de prevenir a desidratação e promover lubrificação.[94] A mucina também pode se ligar à toxinas, aglutinar bactérias e interagir com células hospedeiras.[94]

O grau de proteção da película salivar contra a erosão dentária vai depender da composição, da espessura e do tempo de maturação dessa película.[93] Entretanto, não foi observada diferença no grau de proteção entre películas formadas após 2 e 24hs.[95] A película também vai agir como um reservatório de eletrólitos para a remineralização.[93] Em comparação com o esmalte, a proteção oferecida pela película na dentina parece ser mais limitada.[96-99] De qualquer forma, mesmo no esmalte, sabe-se que a proteção promovida pela ação da saliva, sozinha, não é o suficiente para evitar a perda de estrutura dentária por erosão.[12]

2.1.2.3 Específicas

2.1.2.3.1 Produtos fluoretados

O papel dos fluoretos no tratamento e na prevenção da erosão dentária ainda vem sendo muito discutido. Em cárie, além da difusão do flúor para a superfície do esmalte e da sua adesão à superfície dos cristais de hidroxiapatita, o fluoreto presente no fluido do interior do biofilme vai aumentar, consideravelmente, a sua saturação e acelerar a remineralização em valores de pH acima de 4,5.[100] No entanto, o mecanismo protetor do flúor na erosão dentária parece ser diferente.[24]

Dois mecanismos foram propostos para explicar o efeito protetor dos produtos fluoretados monovalentes na erosão dentária. Dependendo da concentração e do pH do produto, há a deposição de material semelhante ao fluoreto de cálcio (CaF_2) nas superfícies dos dentes. Esses depósitos vão atuar como uma barreira física, evitando o contato direto entre ácidos e a superfície dentária, protegendo, temporariamente, o esmalte subjacente.[101, 102] No momento do ataque ácido, esses depósitos também podem liberar flúor e Ca para o meio, ajudando a reduzir a desmineralização.[103] No entanto, em ambientes muito erosivos, a proteção conferida por esses depósitos parece ser limitada, sendo necessária uma aplicação frequente desses produtos.[24]

Sabe-se que com a aplicação de produtos fluoretados contendo compostos monovalentes em concentrações baixa a moderada, em pH neutro, como nos dentifrícios e alguns enxaguatórios, não resulta na formação de muitos depósitos de fluoreto de cálcio,[25] portanto, pouca proteção contra erosão pode ser esperada.[54, 104] No entanto, a acidificação dessas soluções pode promover um melhor efeito protetor.[21, 105, 106] O uso de produtos com altas concentrações de flúor, ou aplicação por tempo prolongado, também tem se mostrado mais eficientes, já que são capazes de formarem uma camada de CaF_2 mais espessa, densa e estável.[102, 107, 108]

Outra alternativa seria a utilização de compostos fluoretados polivalentes contendo cátions metálicos, como fluoreto de estanho (SnF_2) e tetrafluoreto de titânio (TiF_4), os quais vêm demonstrando uma proteção superior contra o desgaste erosivo, com maior evidência disponível para as formulações contento a combinação de flúor e estanho.[24]

Estudos mostram que o estanho (Sn^{2+}) é capaz de substituir o cálcio (Ca^{2+}) na estrutura da hidroxiapatita.[32, 109] O fluoreto de estanho em valores de pH acima de 4, pode sofrer oxidação e reações de hidrólise, precipitando compostos inativos como fluorofosfatado estanhoso, fluoreto de cálcio estanhoso e hidroxifosfato estanhoso.[109] Acredita-se que esses compostos sejam mais ácido resistentes do que fluoreto de cálcio, formando uma camada amorfa que protege a superfície do dente.[110] O estanho também pode ser incorporado à superfície do esmalte por um processo de desmineralização-remineralização, alterando a composição dessa superfície e assim, aumentado a sua resistência aos ácidos.[32, 33] Já na dentina, o estanho se distribui de maneira homogênea na camada orgânica desmineralizada e, depois de se difundir, vai ser retido na porção mineralizada subsuperficial.[33] Schlueter et al., [111] mostraram que o estanho não precisa estar presente em grandes quantidades para atingir um efeito anti-erosivo. Ganss et al., [101] observaram *in situ* que um enxaguatório contendo flúor e estanho foi promissor na proteção de esmalte e dentina contra erosão, mesmo sob condições severamente erosivas. Outros estudos observaram que um enxaguatório contendo flúor e estanho foi capaz de reduzir a perda de esmalte em 73%[112] 65%[113] ou 65%,[30] quando comparado com o controle negativo, enquanto que o enxaguatório contendo NaF somente reduziu apenas 19%.[30] Em um estudo *in vitro,*[33] o mecanismo de ação do estanho na dentina foi avaliado, observando que o Sn se incorporava na matriz orgânica, e quando essa porção era removida, o estanho se tornava presente na superfície, sempre dependendo da dosagem utilizada. Schlueter et al., [114] em uma avaliação *in vitro* de espécimes de esmalte e dentina submetidos a uma ciclagem de erosão-remineralização, observaram que soluções experimentais contendo $SnCl_2$ diminuiu em 78% a perda de superfície de esmalte e, em dentina, a redução foi de 53%, quando comparado ao controle negativo. No entanto, uma solução contendo NaF somente, para esmalte, não mostrou efeito protetor, e para dentina, ela conseguiu diminuir a perda em 40%.

Outro composto fluoretado muito estudado atualmente é o tetrafluoreto de titânio (TiF_4). Diversos estudos *in vitro* mostraram que esse agente tem um efeito inibidor da progressão da erosão, não só pela presença do flúor, mas também, pelo titânio, que em contato com a superfície do dente pode formar uma camada amorfa protetora.[26, 102, 106, 115, 116] Essa camada é formada pela alta afinidade entre os íons titânio, liberados após a hidrólise das moléculas de TiF_4, e os átomos de oxigênio da

água ou das moléculas de fosfato da superfície dental,[117] formando uma camada de TiO_2,[118] sendo esta resistente à corrosão, além de ser química e termicamente estável.[119]

Os compostos fluoretados podem ser administrados em diferentes veículos. Devido a necessidade de aplicação frequente, há uma preferência por produtos para uso doméstico, sendo os mais comuns os dentifrícios e os enxaguatórios. No entanto, existe uma limitação nas concentrações de flúor a serem utilizadas nesses produtos, de 1.500 ppm ou menos, além da legislação brasileira permitir apenas 202,5 a 247,5 ppm de flúor em enxaguatórios.[24] Assim, há a necessidade de se buscar alternativas para aumentar a efetividade dos produtos de uso doméstico na prevenção da erosão.

2.1.2.3.2. Alternativas ao flúor

Como alternativa ao flúor, algumas estratégias têm sido propostas, como a formação de uma camada de proteção ácido-resistente sobre a superfície do esmalte (através da utilização de polímeros e/ou adesivos) e o uso de mecanismos que possam melhorar a precipitação de minerais e/ou a preservação da matriz orgânica da dentina.[35]

O potencial anti-erosivo dos polímeros formadores de filme não tem sido muito investigado. Os polímeros formadores de filme são capazes de se adsorver quimicamente ou fisicamente na superfície dentária, ou seja, após sua aplicação, ele interage com a superfície através de ligação química, formando uma nova fase, ou interage mais fracamente, por adsorção física.[120] A maioria dos estudos com esses polímeros testou a sua habilidade de reduzir o potencial erosivo de bebidas ácidas ou refrigerantes, sendo exemplo dos polímeros testados a ovalbumina, caseína, pectina ou alginato.[37, 121, 122] Existem poucos dados sobre a ação dos agentes formadores de filme como ingredientes ativos de produtos de higiene oral específicos para prevenir o desgaste erosivo.[31, 123]

Em relação às soluções erosivas, uma redução na dissolução da hidroxiapatita foi observada com a adição de alguns polímeros de fosfato, a goma xantana e o CMC à uma solução de ácido cítrico.[122] Outro polímero que mostrou resultado significativo foi o propileno glicol alginato, que demonstrou habilidade de

reduzir a perda da nanodureza do esmalte humano causada pela ação de soluções ácidas.[37]

Em relação à capacidade desses polímeros em reduzir o desgaste erosivo, resultados promissores foram observados com a caseína,[22] a quitosana,[40] e alguns polifosfatos.[31, 124-127] Além de mostrarem, por si só, um potencial efeito protetor contra erosão, foi observado que alguns desses polímeros podem interagir positivamente com compostos fluoretados, aumentando assim seu efeito protetor.[22, 31, 40, 43, 123]

A arginina também é um agente que foi testado na prevenção da erosão, pois quando adicionada a um dentifrício, exibiu um efeito protetor, complementando a ação do carboneto de cálcio e fluoreto.[128] Outro agente é o CPP-ACP que é um derivado da proteína do leite caseína. Esse agente vai estabilizar os íons de cálcio e fosfato, aumentando a disponibilidade dos mesmos na superfície dentária. Assim, quando o flúor está presente, a formação de partículas de material semelhante ao CaF_2 é aumentada devido a presença de mais Ca^{2+} próximo da superfície. Porém, como a interação desse agente se dá melhor com superfícies que já têm o biofilme formado ou em sub superfícies de lesão de cárie, a utilização do CCP-ACP como um agente anti-erosivo precisa ser melhor determinada.[103] Em um estudo *in* situ, foi demostrado que o uso de goma de mascar contendo CCP-ACP foi capaz de causar um maior aumento na dureza (30-96%) em comparação com o grupo que utilizou a goma sem CCP-ACP.[129] Comparando uma pasta contendo CCP-ACP (com e sem flúor) com leite (com e sem flúor), nenhum dos dois foi capaz de reduzir a PS do esmalte, mas dentifrícios fluoretados, bem como enxaguatórios contendo estanho, conseguiram promover uma proteção do esmalte.[130]

2.1.3 Método perfilométrico para avaliação do desgaste erosivo

Segundo estudos encontrados na literatura, a perfilometria é o método mais utilizado para quantificar o desgaste erosivo em estudos in vitro, in situ e também, em modelos clínicos, tanto em dentina como em esmalte. Outros métodos muito utilizados é a dureza, para esmalte, e a microradiografia, para dentina.[131]

2.1.3.1 Perfilometria

A perfilometria quantifica a perda de superfície em relação a uma área de referência não tratada, ou compara o perfil inicial da amostra com seu perfil final. A medição é feita através do escaneamento da superfície do espécime, gerando um perfil bi ou tridimensional, podendo utilizar dispositivos de contato ou sem contato.[131] Na perfilometria de contato, a superfície é escaneada usando uma caneta com a ponta de diamante ou de aço.[131] Já na perfilometria ótica (sem contato), o escaneamento ocorre com o uso de feixes de laser, o qual é capaz de mapear toda superfície topográfica do espécime.[132]

Devido a camada desmineralizada mais superficial do esmalte erodido ser mais susceptível a forças mecânicas, as medições com perfilometria ótica podem ser mais efetivas do que as realizadas com perfilometro de contato, pela forma como ocorre a penetração da caneta nessa camada frágil.[132] Assim como Hooper et al., [68] demonstraram que a perfilometria foi capaz de distinguir pequenos desgastes causados por diferentes pastas abrasivas no esmalte (gerando uma perda de superfície de aproximadamente 0,5 µm), Hara e Zero[133] também afirmaram que lesões por volta de 0,5 µm de profundidade podem ser detectadas e medidas com acurácia pelo perfilômetro ótico. No entanto, para uma mensuração mais precisa, há a necessidade do uso espécimes bem polidos e planos.

Superfícies úmidas podem prejudicar a precisão da medição ótica do perfilometro, devido à flexão dos feixes na superfície dos líquidos. Porém, quando a erosão é avaliada em amostras de dentina, é importante notar que a secagem desse substrato pode levar ao colabamento da matriz de colágeno, tornando mais difícil a percepção de pequenas perdas de superfície e alterações.[131] Attin et al.,[134] afirmaram que, para análise da dentina com perfilometria ótica (principalmente uma dentina erodida), o ideal é que o espécime esteja úmido, para que não haja um encolhimento da superfície dentinária erodida. Além disso, a presença da matriz de colágeno exposta pode interferir na leitura, pois a perda de mineral dos espécimes não será quantificada adequadamente.[135]

No geral, apesar de ser um método amplamente utilizado na determinação da perda de superficial por erosão, deve ser ressaltado que a perfilometria é precisa, desde que essa perda esteja acima de 0,4µm.[132]

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito anti-erosivo dos copolímeros formadores de filme Gantrez, Plasdone, Caboximetil Celulose e Propileno Glicol Alginato, bem como a associação destes com o fluoreto de sódio e o cloreto de estanho, em esmalte e dentina.

As hipóteses desse estudo foram: 1. Os copolímeros, quando testados isoladamente, serão capazes de reduzir o desgaste erosivo em esmalte e dentina; 2. Os copolímeros serão capazes de melhorar o efeito protetor do fluoreto de sódio e da combinação do fluoreto de sódio com o cloreto de estanho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEUA), (ANEXO B), por envolver o uso de 120 dentes bovinos extraídos de animais abatidos em frigorífico. Também foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), (ANEXO A), por utilizar saliva que foi coletada de voluntários.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Esse estudo seguiu um delineamento experimental totalmente aleatorizado, com dois fatores experimentais: polímeros em 5 níveis (Gantrez, Plasdone, CMC, PGA e Sem polímero) e o tipo de soluções fluoretadas, em 3 níveis (Controle, F e F+Sn). As soluções experimentais foram testadas em um modelo de erosão – remineralização, usando espécimes de esmalte (n=10) e dentina (n=10), obtidos de incisivos bovinos. A variável resposta foi a perda de superfície (em µm), medida ao final da fase de ciclagem com um perfilometro ótico. Todos os procedimentos foram realizados numa sequência aleatória e de maneira cega.

4.3 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Para este estudo foram utilizados 120 incisivos bovinos. Fragmentos de esmalte e de dentina radicular, com 4 mm de largura x 4 mm de altura x 2 mm de espessura, foram seccionados das coroas e das raízes dos incisivos, respectivamente, utilizando uma cortadora automática (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Os fragmentos foram incluídos em resina acrílica (Varidur, Buehler), utilizando moldes de silicone de aproximadamente 10 mm x 10 mm. Os blocos resultantes foram planificados e polidos com discos abrasivos de

Al_2O_3, sob refrigeração com água abundante, realizada de acordo com a seguinte sequência de granulação: 800, 1200, 2400 e 4000 (Buehler). As figuras 4.1 e 4.2 mostram a sequência do preparo dos espécimes.

Figura 4.1 - Secção dos espécimes

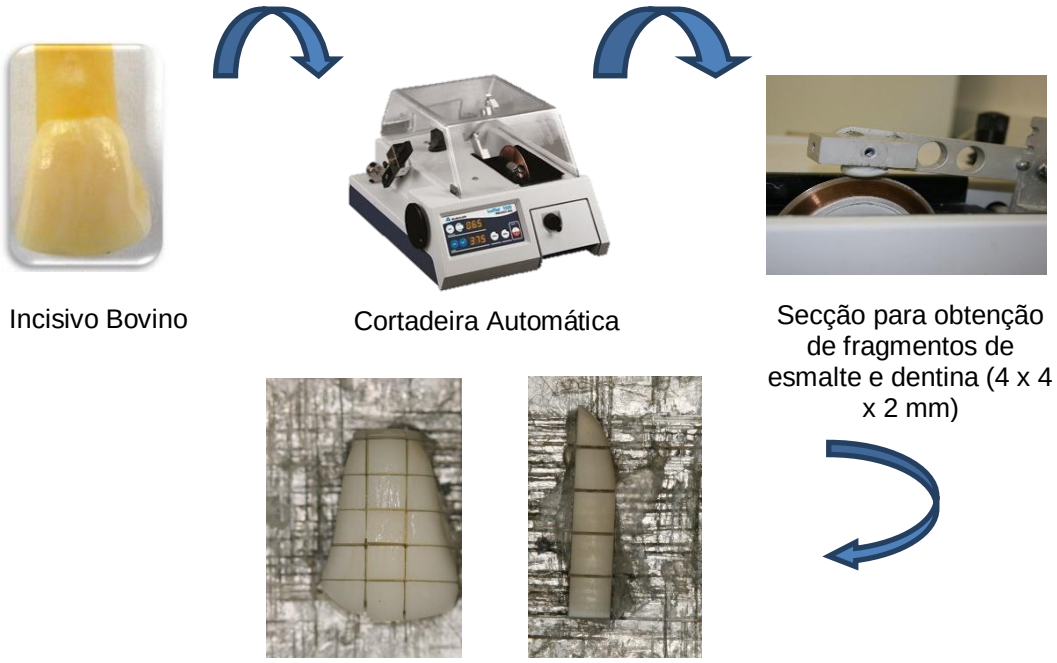
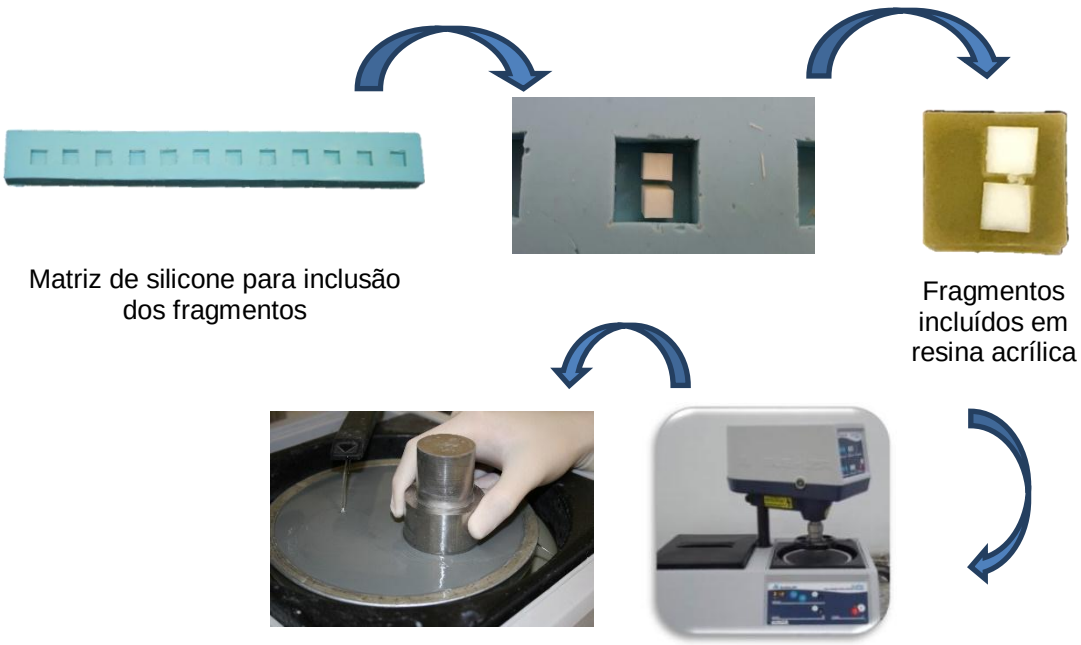
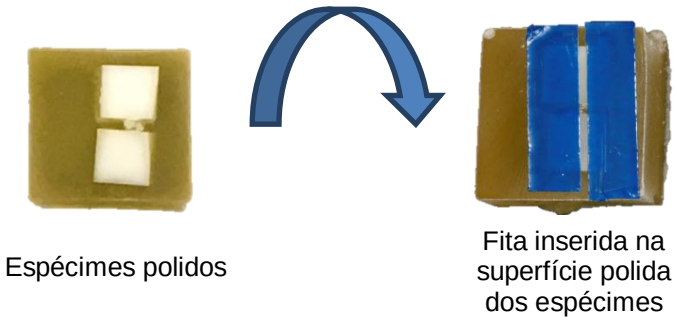


Figura 4.2 - Inclusão e polimento dos espécimes



Os espécimes com trincas ou algum outro defeito de superfície foram descartados. Para padronização das amostras, após o polimento e planificação dos espécimes, foi realizada uma leitura da curvatura inicial, em perfilometro ótico (Proscan 2100, Scantron, Venture Way, Tauton, UK), onde apenas espécimes com curvatura de até 0,3 µm foram selecionados. Mais detalhes da medição da curvatura inicial dos espécimes estão apresentados no item 4.8. Foram polidos 180 espécimes de cada substrato, dos quais 150 foram selecionados. Em seguida, uma fita adesiva de UPVC foi então inserida na superfície polida dos espécimes de maneira a deixar uma janela de 4 mm x 1 mm exposta aos testes subsequentes, como mostrado na figura 4.3.

Figura 4.3 - Fita posicionada na superfície polida dos espécimes



4.4 SOLUÇÕES EXPERIMENTAIS

As soluções que foram testadas nesse estudo estão apresentadas na Tabela 4.1. Para o F e o Sn, as concentrações utilizadas foram escolhidas baseadas em estudos anteriores (225 ppm F ou aproximadamente 0,497 g/l e 800 ppm Sn ou aproximadamente 1,28 g/l).[31, 123] Para os copolímeros formadores de filme, a concentração utilizada foi determinada com base em testes preliminares, tomando-se como base a viscosidade das soluções, sempre compatível com a da água. A água deionizada foi utilizada como controle. O pH de todas as soluções experimentais (com exceção da água) foi ajustado para o valor de 4,5 (com solução de KOH a 1M ou HCl

concentrado), para eliminar um potencial fator de confusão na interpretação dos resultados do estudo. Nas soluções contendo Sn, foi adicionado 2,3 g/l de ácido glucônico de sódio, para estabilidade.

Tabela 4.1 - Soluções experimentais, concentrações e fabricantes dos reagentes utilizados

Soluções experimentais	Concentração (g/l)	Fabricante
C: Água deionizada (Controle)	N/A	N/A
F: Fluoreto de sódio	0,497	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
F+Sn: F + Cloreto de estanho	0,497+1,1053	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Gantrez	1	Ashland Speciality ingredients, Ashland, KY, USA
Plasdone	1	Ashland Speciality ingredients, Ashland, KY, USA
Aqualon CMC: Carboximetil Celulose	1	Ashland Speciality ingredients, Ashland, KY, USA
PGA: Propileno Glicol Alginato	1	Sidley Chemical Co, Linyi, Shandong, China
F + Gantrez	0,497+ 1	
F + Plasdone	0,497+ 1	
F + CMC	0,497+ 1	
F + PGA	0,497+ 1	
F + Sn + Gantrez	0,497+ 1,277 + 1	
F + Sn + Plasdone	0,497+ 1,277 + 1	
F + Sn + CMC	0,497+ 1,277 + 1	
F + Sn + PGA	0,497+ 1,277 + 1	

4.5 TESTE DE VISCOSIDADE

Após o preparo das soluções, todas foram submetidas ao teste de viscosidade, onde só seriam utilizadas soluções com viscosidade próximas da água, não aceitando viscosidades que fossem 10 vezes maior do que o valor estabelecido, pois, com base em um estudo preliminar, observamos que isso dificultaria a realização de um bochecho. Esse teste foi conduzido em um viscosímetro de vibração (SV-10, A&D, Japão) (Figura 4.4). Para a medida, foram utilizados dois discos recobertos por ouro, idênticos, com uma haste de suporte, que era inserida na solução a ser analisada. Os suportes eram acionados, fazendo com que eles vibrassem em uma certa frequência e com um deslocamento característico dos discos. A viscosidade das soluções reduzia essa vibração, sendo que o sensor de aparelho media essa redução no deslocamento. Os discos se mantinham acionados para que houvesse um deslocamento constante. A viscosidade foi então determinada pela medição da corrente elétrica necessária para ressoar as duas placas do sensor, a uma frequência constante de 30 Hz, para manter a amplitude. A corrente necessária pelo acionador foi medida, e esta foi calibrada para a obtenção da viscosidade. Esse equipamento fornece a viscosidade dinâmica da amostra. A calibração foi realizada com água no modo um ponto de calibração.

Figura 4.4 - Vibro viscosímetro SV-10

4.6 COLETA E ARMAZENAMENTO DA SALIVA HUMANA

Saliva humana estimulada foi coletada de voluntários adultos sem cárie ativa, doença periodontal, disfunção salivar, disfunção da articulação tempo-mandibular ou que estejam tomando alguma medicação. Os voluntários foram recrutados entre os alunos de Pós Graduação da Dentística. A coleta da saliva foi realizada no Laboratório de Pesquisa Aplicada à Dentística Prof. Lincoln Steagall. Para participarem do estudo, os voluntários deveriam ter idade maior do que 18 anos e fluxo salivar estimulado ≥ 1 ml/min e não estimulado ≥ 0.2 ml/min.[136] A técnica de coleta para determinação dos fluxos foi a mesma descrita em Scaramucci, Sobral [121] Antes da coleta de recrutamento, os voluntários foram orientados quanto à natureza da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

Os voluntários que se encaixaram nos critérios de inclusão e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido realizaram a coleta de saliva para o estudo em si. Para padronização, os voluntários receberam um dentifrício fluoretado (Colgate Máxima Proteção Anticáries, contendo 1450 ppm F, Colgate Palmolive Company, Osasco, Brasil), fornecidos pelos pesquisadores, para serem utilizado durante o período de coleta de saliva. A coleta foi realizada 1 h após o café da manhã. Os doadores tinham que bochechar água destilada por 30 s, cuspir e estimular a salivação através da mastigação de parafilme por 30 s.[137] Após esse período, o voluntário então engolia a saliva e começava a coleta, que tinha duração de, no máximo, 10 min. A saliva foi coletada em tubos de centrífuga imersos em gelo durante todo o período. As coletas foram realizadas em 20 dias, nos mesmos horários e no mesmo local, com temperatura ambiente, e pelos mesmos doadores, obtendo-se assim, 20 tubos de coleta de cada doador. Estima-se que cada voluntário doou aproximadamente 20 ml por dia, volume que foi previsto com base em estudo prévio.[138] Após a coleta de cada dia, a saliva dos diferentes voluntários foi então misturada e imediatamente centrifugada a 14000 g, por 20 min, sob refrigeração a 4°C. O sobrenadante foi separado e inserido em novos tubos de centrífuga, que foram armazenados em um

freezer a - 80°C. No dia anterior à sua utilização, a quantidade necessária de saliva foi transferida do freezer para a geladeira. No dia do seu uso, a saliva foi removida da geladeira e deixada na temperatura ambiente por, pelo menos, 2 h. Devido ao fato de que a saliva foi centrifugada, todo conteúdo de saliva coletado foi utilizado no experimento.

4.7 CICLAGEM EROSÃO – REMINERALIZAÇÃO

Cento e cinquenta espécimes de esmalte e 150 espécimes de dentina foram aleatoriamente distribuídos nos 15 grupos experimentais (n=10). Para a ciclagem, os espécimes foram fixos, com cera pegajosa, em tampas de placas de cultura biológica. Durante a ciclagem, os espécimes foram imersos em 4 ml de solução ácida, saliva ou solução experimental, que foram inseridas nos nichos das placas com o auxílio de uma pipeta.

Antes do início da ciclagem, os espécimes foram encubados na saliva por 2 h, em temperatura ambiente, sob agitação suave, para permitir a formação da película salivar adquirida in vitro.[95] Em cada dia da ciclagem, os espécimes foram imersos, por 5 min, em uma solução de ácido cítrico a 0,3% (pH natural de aproximadamente 2,6), seguido por 120 min de exposição à saliva humana centrifugada. Esse procedimento foi repetido 4 vezes ao dia, por 5 dias. O tratamento com as soluções teste foi realizado 2 vezes ao dia, 60 min após o primeiro e o último desafios erosivos, por 2 min. Os espécimes eram lavados com água deionizada após os desafios erosivos. Todos os procedimentos foram conduzidos em temperatura ambiente. A solução erosiva e as soluções teste foram renovadas a cada exposição. A saliva foi trocada uma vez ao dia, antes do início da ciclagem. A tabela 4.2 mostra a sequência diária da ciclagem.

Tabela 4.2 - Sequência diária da ciclagem

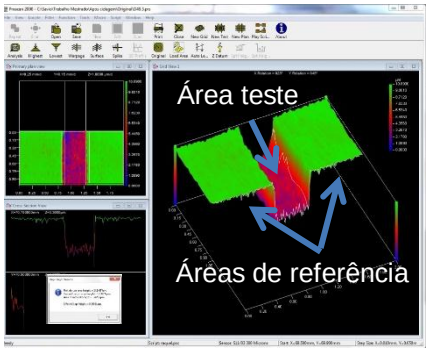
Passos	**Sequência**	**Procedimentos**
1	Exposição a saliva	120 min (saliva centrifugada)
	Desafio erosivo	5 min (ácido cítrico a 0,3%)
	Exposição a saliva	60 min (saliva)
	Tratamento	2 min (soluções experimentais)
	Exposição a saliva	60 min (saliva centrifugada)
2	Desafio erosivo	5 min (ácido cítrico a 0,3%)
	Exposição a saliva	120 min (saliva centrifugada)
3	Desafio erosivo	5 min (ácido cítrico a 0,3%)
	Exposição a saliva	120 min (saliva centrifugada)
4	Desafio erosivo	5 min (ácido cítrico a 0,3%)
	Exposição a saliva	60 min (saliva centrifugada)
	Tratamento	2 min (soluções experimentais)
	Exposição a saliva	Período noturno (saliva centrifugada)

4.8 AVALIAÇÃO DA PERDA SUPERFICIAL

Ao final da ciclagem, as fitas foram removidas e os espécimes analisados em relação à perda superficial. Uma área de 2 mm de comprimento (no eixo x) e 1 mm de largura (no eixo y) foi escaneada na superfície dos espécimes com um perfilômetro ótico (Proscan 2100, Scantron, Venture Way, Tauton, UK). Esse escaneamento abrangeu a área tratada e as duas áreas de referência, em ambos os lados, como mostrado na figura 4.5. No eixo x, o tamanho do passo foi definido em 0,01 mm e o número de passos em 200. No eixo y, esses valores foram de 0,1 mm e 10, respectivamente. A profundidade da área tratada foi calculada com base na

subtração da altura média da área teste da altura média das duas áreas de referência, com o uso de um software específico (Proscan Application software v. 2.0.17). Para padronização, os espécimes de dentina foram escaneados ainda úmidos, para que não houvesse um encolhimento da superfície dentinária erodida.[134]

Figura 4.5 - Perfilômetro ótico e uma imagem representativa da superfície dos espécimes escaneada com os parâmetros descritos



Perfilômetro ótico

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTIICA

Os valores de perda de superfície, em esmalte e dentina, foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de Shapiro-Willks e Brown-Forsythe, respectivamente. Na sequencia a comparação entre os grupos foi realizada com os testes de análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas com dois fatores e Tukey, com nível de significância de 5%. Os substratos, esmalte e dentina, foram analisados de maneira independente. Os cálculos estatísticos foram realizados pelo software SigmaPlot 13.0 (Systat Software Inc., Chicago, IL, USA).

5 RESULTADOS

As viscosidades das soluções experimentais, em mPa.s, medidas a 24 ºC, estão apresentadas na tabela 5.1. Como pode ser observado, o PGA e o CMC foram os copolímeros que causaram a maior alteração na viscosidade das soluções. O restante das soluções não apresentou viscosidade muito diferente de 1, a viscosidade da água. [139] Visivelmente nenhuma das soluções se mostrou diferente, da solução controle (água deionizada)

Tabela 5.1 - Medidas da viscosidade das soluções em mPa.s à 24ºC

Amostra	**Viscosidade dinâmica a 24º (mPa.s)**
Água	0,91
F	0,92
F+Sn	1,02
Gantrez	1,21
Plasdone	0,93
CMC	2,28
PGA	2,4
Gantrez + F	1,79
Plasdone + F	0,88
CMC + F	1,58
PGA + F	1,66
Gantrez + F + Sn	0,99
Plasdone + F + Sn	0,97
CMC + F + Sn	1,09
PGA + F + Sn	1,23

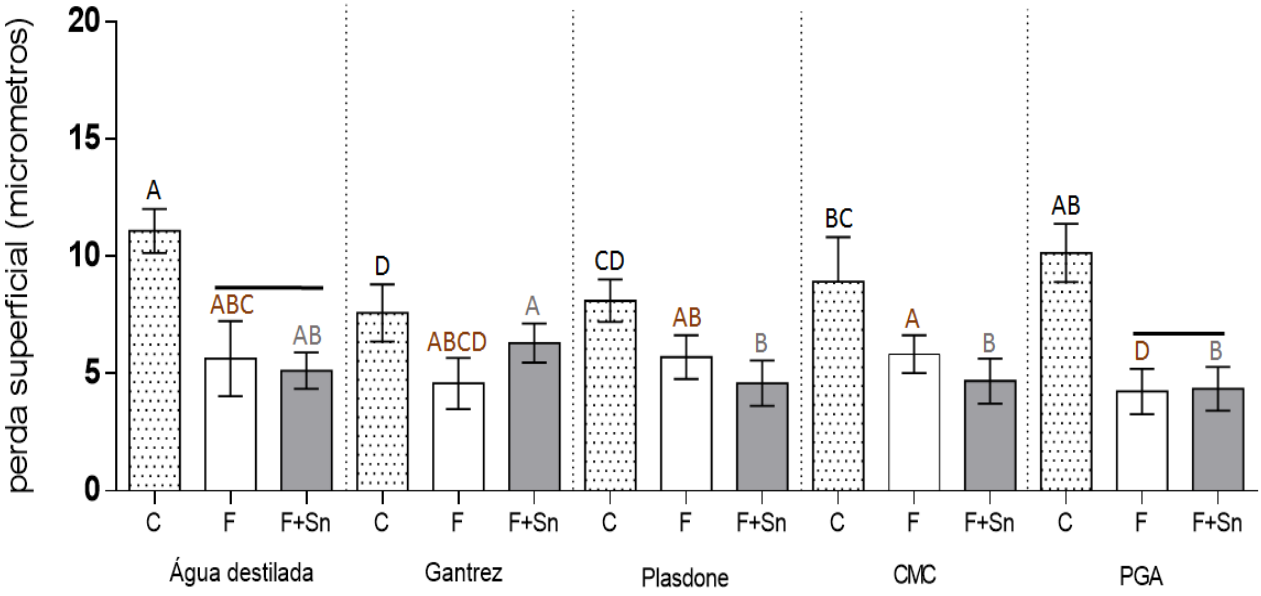
As médias (DP) da PS de esmalte das soluções experimentais estão apresentadas na tabela 5.2 e no gráfico 5.1. Em relação às soluções contendo os copolímeros isoladamente, o Gantrez foi o que apresentou a menor PS, mas ele não diferiu significativamente do Plasdone, que por sua vez, não teve diferença estatisticamente significante do CMC. O CMC também não apresentou diferença em relação ao PGA. A água foi o que apresentou a maior PS, não havendo diferença significativa com o PGA. No que diz respeito às soluções contendo fluoreto de sódio (F), o PGA apresentou a menor perda de esmalte, mas ele não se diferiu do Gantrez. Todas as associações de copolímeros com F, com exceção do F+PGA, não se diferenciaram significativamente do F isoladamente. Todas as associações de copolímeros com F+Sn não se diferiram significativamente da solução F+Sn somente.

Para os copolímeros Plasdone e CMC, o F+Sn apresentou a menor PS, seguido pelo F e então, pela água. Para a água e PGA, não houve diferença significativa entre F+Sn e F, sendo que ambos apresentaram menor PS do que a água. Para Gantrez, o F apresentou a menor PS, seguido por F+Sn e depois, pela água.

Tabela 5.2 - Médias (DP) da PS de esmalte (em µm) para as soluções experimentais. Em colunas, letras diferentes denotam diferença estatística entre os copolímeros para cada tipo de solução fluoretada ($p<0,05$). Em linha, as médias das soluções fluoretadas conectadas por barras não apresentaram diferenças significativas entre si, em cada copolímero ($p<0,05$)

Polímeros	**Controle**		**F**		**F+Sn**	
Água	11,09 (0,94)	A	5,64 (1,60)	ABC	5,13 (0,78)	AB
Gantrez	7,59 (1,22)	D	4,58 (1,10)	ABCD	6,31 (0,84)	A
Plasdone	8,12 (0,91)	CD	5,71 (0,93)	AB	4,59 (0,97)	B
CMC	8,92 (1,92)	BC	5,83 (0,81)	A	4,69 (0,96)	B
PGA	10,15 (1,25)	AB	4,24 (0,97)	D	4,35 (0,93)	B

Gráfico 5.1 - Letras diferentes mostram diferença estatística entre os copolímeros para cada tipo de solução fluoretada (p<0,05). Os grupos conectados por barras não apresentaram diferenças significativas entre si, em cada copolímero (p<0,05)



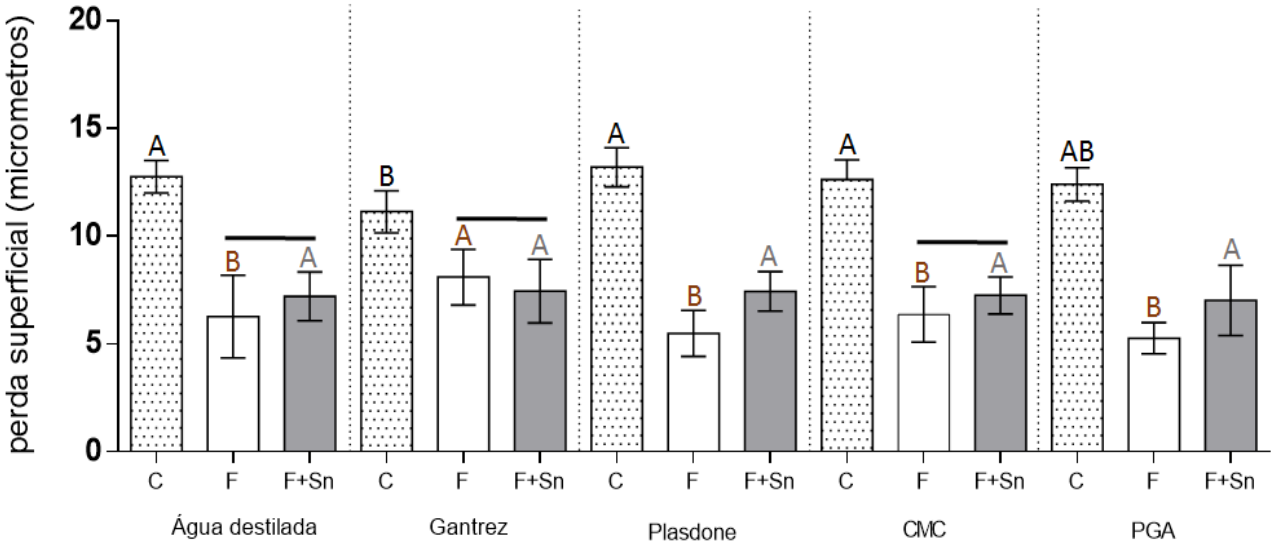
As médias (DP) da PS de dentina das soluções experimentais estão apresentadas na tabela 5.3 e no gráfico 5.2. Em relação às soluções contendo os copolímeros isoladamente, o Gantrez foi o que apresentou a menor PS, mas ele não diferiu significativamente do PGA, que por sua vez, não diferiu dos demais. No que diz respeito às soluções contendo F, o Gantrez apresentou a maior perda de dentina, mostrando diferença significante em relação aos demais, os quais não apresentaram diferença entre si. Em relação às soluções contendo F+Sn, todos os grupos não apresentaram perda superficial significativamente diferentes entre si.

Para os copolímeros Plasdone e PGA, o F apresentou a menor PS, seguido pelo F+Sn e então, pelo controle. Para a Água, Gantrez e CMC, não houve diferença significativa entre F+Sn e F, sendo que ambos apresentaram menor PS do que a água.

Tabela 5.3 - Médias (DP) da PS de dentina (em μm) para as soluções experimentais. Em colunas, letras diferentes mostram diferença significativa entre os copolímeros para cada tipo de solução fluoretada (p<0,05). Em linha, as médias das soluções fluoretadas que estão conectadas por barras não apresentaram diferenças significativas entre si, para cada copolímero (p<0,05)

Polímeros	Controle		F		F+Sn	
Água	12,76 (0,75)	A	6,28 (1,9)	B	7,21 (1,13)	A
Gantrez	11,40 (0,97)	B	8,10 (1,29)	A	7,45 (1,48)	A
Plasdone	13,21 (0,91)	A	5,49 (1,07)	B	7,44 (0,92)	A
CMC	12,63 (0,91)	A	6,37 (1,28)	B	7,25 (0,85)	A
PGA	12,40 (0,78)	AB	5,26 (0,72)	B	7,02 (1,64)	A

Gráfico 5.2 - Letras diferentes mostram diferença significativa entre os copolímeros para cada tipo de solução fluoretada (p<0,05). Colunas conectadas por barras não apresentaram diferenças significativas entre si, para cada copolímero (p<0,05)



6 DISCUSSÃO

Os copolímeros testados no presente estudo são comumente utilizados na indústria como aditivos de dentifrícios, adesivos para próteses e enxaguatórios. Alguns deles, como o PGA, também já foram testados com o intuito de reduzir o potencial erosivo de soluções ácidas.[37] No entanto, o efeito desses copolímeros como ingredientes ativos de produtos para a prevenção da erosão, e a possível interação deles com fluoretos e o estanho, são assuntos que ainda não haviam sido explorados. A escolha da concentração dos copolímeros a ser investigada nesse estudo foi realizada com base no teste de viscosidade, pois muitos desses copolímeros são incrementadores de viscosidade, e para esse estudo, foi determinado que a solução deveria ser compatível com o modo de uso de enxaguatórios bucais, ou seja, ela deveria ser passível de ser bochechada. Como pode ser observado no teste de viscosidade, na concentração utilizada, os copolímeros não foram capazes de causar grandes alterações na viscosidade das soluções. Em um estudo prévio realizado pelo nosso grupo (dados ainda não publicados), observamos que a viscosidade só exercia influencia no efeito protetor de soluções fluoretadas quando esta era aumentada em quase vinte vezes.

Quando avaliados em esmalte, isoladamente, os copolímeros Gantrez, Plasdone e CMC mostraram um efeito protetor quando comparados ao controle. Uma possível teoria para explicar esse fato é que esses copolímeros são formadores de filme, ou seja, eles podem interagir com a superfície do esmalte formando uma película protetora, diminuindo, assim, o contato com a substância ácida.[35]

O Gantrez pertence a uma família de copolímeros sintéticos baseado em sais de sódio e cálcio de metil vinil éter anidrato málico, que tem como características a bioadesividade e a formação de filme. É comumente utilizado na indústria em adesivos para dentadura e em produtos de higiene oral, com o objetivo de aumentar a presença de ativos nas membranas mucosas. Sua alta massa molar (1.000.000 g/mol) indica que se trata de uma molécula grande. Além disso, o Gantrez possui muitos grupos carboxilatos em sua composição, ou seja, muitos sítios carregados negativamente, o que o torna ávido para interagir com o cálcio da superfície do dente.[140] Devido ao tamanho da sua cadeia e, também, da sua grande quantidade

de carga negativa, esse copolímero tem tendência a aderir a superfície dentária ocupando mais sítios de ligação, adsorvendo-se portanto, de forma mais homogênea. Entretanto, essa camada mais homogênea também pode diminuir a quantidade de sítio ativos para o fluoreto se ligar, o que poderia explicar a ausência de sinergismo desse copolímero com o fluoreto. Considerando que a camada formada pelo Gantrez é bastante negativa, pode-se hipotetizar que ela tenha também se comportado como uma barreira eletrostática para o F, repelindo-o. Já na presença do Sn, que é um cátion, essa barreira tenderia a atrai-lo, por meio de uma ligação eletrostática, funcionando, assim, como uma armadilha eletrostática que diminuiria a disponibilidade do Sn em interagir com o dente, justificando a ausência de sinergia entre o Gantrez e a combinação F+Sn.

O Plasdone é um copolímero linear, composto por N-vinil-pirrolidona e vinil acetato, com tendência a adquirir carga positiva em solução aquosa. É comumente usado na indústria como aditivo de dentifrícios, enxaguatórios e em pastilhas para limpeza de próteses removíveis. Em dentifrícios e enxaguatórios, ele tem a função remover manchas, devido a sua habilidade de formar complexos com muitas das moléculas químicas que causam o manchamento nos dentes. Nas pastilhas para limpeza de próteses removíveis, ele é utilizado devido ao seu grande tamanho molecular (58.000 g/mol) e alto conteúdo inorgânico, o que torna a pastilha menos friável.[140] O Plasdone tem grande quantidade de grupos polares (oxigênio e nitrogênio), o que vai promover uma interação mais fraca com a superfície dental, ou seja, apenas por meio de diferença de polaridade. Postula-se então que o filme formador por esse copolímero possui um arranjo mais desordenado, ou seja, a sua adsorção à superfície não é tão efetiva quanto a do Gantrez, por isso, seu menor efeito protetor. Por se ligar aos sítios negativos nas superfícies dentais e, devido ao grande tamanho da sua molécula, de maneira semelhante ao Gantrez, a falta de efeito adicional da combinação Plasdone e fluoreto pode ser atribuída a uma possível barreira que a esse copolímero cria, impedindo que o fluoreto chegue na superfície, além de também existir uma competição com o F por sítios de ligação.

O CMC, por sua vez, é um copolímero derivado de fontes naturais, aniônico, solúvel em água e que possui peso molecular de 90.000 g/mol. Ele é utilizado na indústria para modificar a reologia dos produtos, sendo um incrementador de viscosidade, para promover a ligação de moléculas de água e assim, inibir a sinérese.[140] Como o efeito protetor do CMC foi menor do que o do Gantrez, pode ser

sugerido que ele foi mais facilmente removido pelos desafios ácidos subsequentes a sua aplicação, possivelmente, devido a menor negatividade de sua molécula, já que esse copolímero também apresenta ligações de grupos polares às superfícies dentais, portanto, sua interação também não pode ser considerada forte. De maneira semelhante ao Gantrez, ele pode interferir negativamente na adsorção do F e do Sn na superfície, porém em menor intensidade.

O PGA foi o único copolímero que não exibiu efeito protetor, pois ele é um éster de ácido algínico, possuindo grupos carboxílicos (carga negativa) que são esterificados com propileno glicol, e tem habilidade de interagir com o cálcio presente na superfície. Devido à grande variabilidade na distribuição do seu peso molecular, que varia de 10.000 a 600.000 g/mol,[37] sugere-se que sua interação com esmalte forme um arranjo muito desordenado, não conseguindo formar uma camada homogênea e protetora.

Estudos mostram que a ação do NaF no controle da progressão da erosão é eficaz, porém limitada,[24, 103, 105, 141] portanto, se torna desejável potencializar o efeito protetor do fluoreto de sódio, o que pode ser realizado pela adição de copolímeros formadores de filme.[31, 125-127] Como já mencionado anteriormente, acredita-se que o principal mecanismo protetor dos fluoretos monovalentes contra a erosão seja através da deposição de material semelhante ao fluoreto de cálcio,[99] o qual teria a dupla função de atuar como um escudo que protege o esmalte contra impactos ácidos e, também, como um reservatório que libera F- para o meio no momento do desafio erosivo.[103] No presente estudo, apesar de não ter exibido efeito anti-erosivo por ele só, o PGA foi o único copolímero capaz de melhorar o efeito protetor do NaF. Supõe-se que o PGA tenha ocupado os sítios ativos negativos livres na superfície do esmalte, no entanto, devido à sua adsorção desordenada, ainda sobraram muitos sítios para o F interagir, formando, assim, uma camada protetora mais eficiente. Para as moléculas mais negativamente carregadas, no entanto, hipotetizou-se que possa ter havido uma certa competição com flúor por sítios de ligação na superfície do esmalte, onde os copolímeros ocuparam esses sítios formando uma camada mais homogênea e carregada, repelindo eletrostaticamente o F.

O efeito de produtos fluoretados contendo cátions metálicos polivalentes na superfície dentária tem sido largamente estudado. Produtos contendo estanho já tem sua eficácia consagrada na proteção contra a desmineralização no contexto da cárie.[142] Muitas investigações já demonstraram o efeito superior de soluções

contendo fluoretos e estanho na prevenção da erosão, em relação a soluções contendo somente fluoretos.[31, 33, 110, 123, 143, 144] No entanto, no presente estudo, tal efeito não foi observado, pois não houve diferenças significativas na perda de esmalte entre a solução F e a F+Sn. Isso pode ser atribuído a magnitude do desafio erosivo realizado, o qual foi menos agressivo, com somente 4 imersões ao dia em ácido cítrico à 0,3%, por 5min, ao passo que nos estudos anteriores, foram utilizados até 6 imersões, com ácidos mais fortes e por mais tempo.[30, 101, 110, 112, 114, 123] Como já demonstrado anteriormente, desafios mais agressivos podem melhor diferenciar o efeito protetor das soluções fluoretadas contendo estanho em relação às soluções contendo fluoreto apenas.[31] Outra hipótese pode estar relacionada com o momento de aplicação das soluções contendo F+Sn em relação a presença da película salivar adquirida. Isso porque a maioria dos estudos *in situ* que mostraram que o F+Sn tem efeito superior ao F, aplicaram as soluções após um desafio erosivo, com a película adquirida parcialmente dissolvida pelo ataque ácido.[95, 97, 145] Enquanto que no presente estudo, houve a indução da formação da película pela imersão dos espécimes em saliva humana por 2 h antes da aplicação das soluções. Apesar de haver diferença entre a película salivar formada *in vitro* e *in situ*,[146] pode ser hipotetizado que as proteínas salivares presentes na película adquirida, que também tem afinidade com a superfície dentária, possam ter competido com o F+Sn por receptores de ligação, diminuindo assim seu efeito protetor. Evidência desse fenômeno pode ser observada quando comparamos os resultados de dois estudos anteriores,[31, 123] que avaliaram o efeito anti-erosivo de soluções contendo F e F+Sn utilizando um mesmo modelo de erosão-remineralização, com exceção da saliva, que em um dos estudos foi artificial[31] e, no outro, humana.[123] No estudo que utilizou a saliva artificial, as soluções F e F+Sn reduziram a perda de esmalte em 43 e 57%, respectivamente, enquanto que no estudo que utilizou a saliva humana, as porcentagens do potencial de remineralização da saliva humana, respectivas foram de 8 e 9%. Sem deixar de considerar as possíveis diferenças que possam ter tido de acordo com os diferentes momentos em que os estudos foram realizados, pode-se assumir que, dada a magnitude da diferença, a presença da película adquirida pode, de certa forma, influenciar o efeito protetor dos agentes de superfície, no entanto, mais estudos são necessários para elucidar esse fato.

Ao contrário da solução F, que teve seu potencial anti-erosivo melhorado com a associação ao PGA, nenhum dos copolímeros utilizados foi capaz de promover

uma melhora na proteção da solução F+Sn. Pode-se supor que, como os copolímeros testados possuem carga e cadeia molecular grande, eles podem, de alguma forma, ter interferido na ligação do estanho à superfície do dente, seja por ter se ligado ao próprio íon Sn^{2+} em solução, tornando-o menos disponível, seja por ter dificultado, devido ao grande tamanho molecular, funcionando como uma armadilha eletrostática na ligação do estanho à superfície. Deve ser ressaltado, no entanto, que isso não foi capaz de diminuir o efeito do F+Sn (com exceção de quando F+Sn foi combinado com o Gantrez), somente não foi observado uma melhora, portanto, se houve de fato um menor efeito do estanho, isso deve ter sido compensado pelo copolímero. Quando combinado com o Gantrez, F+Sn teve um desempenho pior que o F, o que pode ser atribuído à alta negatividade do copolímero, que nesse caso diminuiu, com mais evidência, a disponibilidade do estanho. Essas hipóteses, no entanto, precisam ser melhor investigadas.

Em relação ao substrato dentinário, isoladamente, o Gantrez foi o único copolímero que teve efeito protetor contra a erosão quando comparado ao controle, apesar desse efeito ter sido apenas pequeno. Como mencionado anteriormente, como esse copolímero possui o mais alto peso molecular entre os testados e é o que possui mais carga, pode-se sugerir que ele formou uma camada mais homogênea na superfície da dentina, que, por possuir um menor conteúdo mineral e uma superfície mais irregular, impõe uma certa dificuldade para a formação de filmes.[39]

Todas as soluções na presença de fluoretos diminuíram a PS quando comparadas ao controle, mas nenhum dos copolímeros testados foram capazes de melhorar o efeito do F e do F+Sn. Além da maior dificuldade para a formação de filmes devido a sua morfologia irregular, importante mencionar que, nesse estudo,[39] a porção orgânica da dentina não foi removida mecanicamente, nem quimicamente. Assim, acredita-se que a interação dos agentes de superfície com a estrutura mineralizada foi um processo controlado por difusão, em que os agentes tinham que se disseminar entre as fibrilas colágenas para encontrar a porção mineral da dentina.[33] O menor efeito do F+Sn e dos copolímeros formadores de filme em dentina em relação ao esmalte está de acordo com estudos prévios.[30, 31, 33, 101, 147]

O modelo desse estudo foi idealizado seguindo as recomendações para a condução de estudos de erosão/abrasão *in vitro*.[148] Para a ciclagem, foi utilizada saliva humana, na tentativa de simular a presença da película adquirida sobre a

superfície do esmalte e avaliar a interação da mesma com os agentes formadores de filme. A película salivar adquirida é composta por diversas proteínas salivares[14, 96, 144] e atua como uma membrana semipermeável, que controla a difusão de substâncias do meio para a superfície dentária.[12, 86] Como na situação clínica as superfícies dentárias estão recobertas pela película salivar adquirida, a presença desta contribui para um melhor entendimento da interação entre os agentes formadores de filme e o dente.[121, 122, 144] Os espécimes foram inseridos por 2 h em saliva antes do início da ciclagem, para que pudesse ser formada uma película adquirida madura.[95]

Deve ser mencionado que a ação da abrasão por escovação não foi simulada nesse estudo. Esse é um importante fator a ser considerado em investigações futuras, pois sabe-se que a escovação pode remover a camada amolecida da superfície erodida, além de poder, potencialmente, influenciar a durabilidade dos copolímeros formadores de filme nas superfícies dentárias.[20, 31, 123]

Apesar desse estudo ter mostrado um resultado promissor da combinação de PGA com o fluoreto de sódio na prevenção da erosão em esmalte, esse efeito deve ser comprovado em modelos que simulem a condição clínica com mais fidelidade, como os usados em estudos in situ.

7 CONCLUSÃO

De acordo com esse estudo *in vitro*, conclui-se que os copolímeros Gantrez, Plasdone e CMC, isoladamente, possuem efeito anti-erosivo no esmalte. O único copolímero capaz de melhorar o efeito protetor do fluoreto de sódio no esmalte foi o PGA; e nenhum copolímero causou melhora no efeito do fluoreto de sódio mais cloreto de estanho. Para dentina, o Gantrez foi o único copolímero que exibiu uma certa proteção contra erosão, mas não houve benefício complementar na associação dos copolímeros com o fluoreto de sódio nem com o fluoreto de sódio mais cloreto de estanho.

REFERÊNCIAS[1]

1. Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. Monogr Oral Sci. 2014;25:1-15.

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

3. Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. Monogr Oral Sci. 2014;25:32-45.

4. Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. Monogr Oral Sci. 2006;20:44-65.

5. Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. Monogr Oral Sci. 2014;25:55-73.

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

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

8. Huysmans MC, Jager DH, Ruben JL, Unk DE, Klijn CP, Vieira AM. Reduction of erosive wear in situ by stannous fluoride-containing toothpaste. Caries Res. 2011;45(6):518-23.

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

10. Schlueter N, Jaeggi T, Lussi A. Is dental erosion really a problem? Adv Dent Res. 2012;24(2):68-71.

11. 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.

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

[1] De acordo com Estilo Vancouver.

13. Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. Monogr Oral Sci. 2014;25:197-205.

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

15. Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. J Dent Res. 2012;91(12):1110-8.

16. Hannig M, Hannig C. The pellicle and erosion. Monogr Oral Sci. 2014;25:206-14.

17. Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. J Dent Res. 2006;85(7):612-6.

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

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

20. 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.

21. 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.

22. White AJ, Jones SB, Barbour ME, Churchley DR, Gracia LH, Rees GD. Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: evidence for a dose-response. J Dent. 2012;40(8):654-60.

23. 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.

24. Huysmans MC, Young A, Ganss C. The role of fluoride in erosion therapy. Monogr Oral Sci. 2014;25:230-43.

25. Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF(2) precipitation and microstructure. Caries Res. 2001;35 Suppl 1:45-51.

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

27. 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.

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

29. Manarelli MM, Vieira AE, Matheus AA, Sassaki 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.

30. 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;89(11):1214-8.

31. 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;43(4):458-65.

32. Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C. Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: an in vitro tin-uptake, tissue-loss, and scanning electron micrograph study. Eur J Oral Sci. 2009;117(4):427-34.

33. Ganss C, Hardt M, Lussi A, Cocks AK, 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. Eur J Oral Sci. 2010;118(4):376-84.

34. Schlueter N, Tveit AB. Prevalence of erosive tooth wear in risk groups. Monogr Oral Sci. 2014;25:74-98.

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

36. 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;35(6):541-6.

37. 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;26(9):831-9.

38. 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.

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

40. 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;40(12):1036-43.

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

42. White AJ, Gracia LH, Barbour ME. Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. Caries Res. 2011;45(1):13-20.

43. Moretto MJ, Magalhaes AC, Sassaki 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.

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

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

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

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

48. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res. 1999;33(1):81-7.

49. Shellis RP, Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. Monogr Oral Sci. 2014;25:163-79.

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

51. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. Eur J Oral Sci. 2000;108(2):110-4.

52. Turssi CP, Messias DF, Corona SM, Serra MC. Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model. Braz Dent J. 2010;21(4):332-6.

53. Nekrashevych Y, Stosser L. Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. Caries Res. 2003;37(3):225-31.

54. Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T. Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. Caries Res. 2008;42(1):62-7.

55. Meurman JH DT, Frank RM. Experimental erosion of dentin. Scand J Dent Res. 1991;99(6):457-62.

56. Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. J Dent Res. 1994;73(9):1523-9.

57. 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;118(5):475-82.

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

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

60. Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. Arch Oral Biol. 2001;46(8):697-703.

61. Gedalia I, Dakuar A, Shapira L, Lewinstein I, Goultschin J, Rahamim E. Enamel softening with Coca-Cola and rehardening with milk or saliva. Am J Dent. 1991;4(3):120-2.

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

63. Wiegand A, Egert S, Attin T. Toothbrushing before or after an acidic challenge to minimize tooth wear? An in situ/ex vivo study. Am J Dent. 2008;21(1):13-6.

64. Ganss C. Is erosive tooth wear an oral disease? Monogr Oral Sci. 2014;25:16-21.

65. Dababneh RH KA, Addy M. Dentine hypersensitivity - an enigma? A review of terminology, mechanisms, aetiology and management. Brasilian Dental Journal. 1999;187(11):606-11.

66. Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity--the effect of toothbrushing and dietary compounds on dentine in vitro: an SEM study. J Oral Rehabil. 1992;19(2):101-10.

67. Addy M. Tooth brushing, tooth wear and dentine hypersensitivity--are they associated? Int Dent J. 2005;55(4 Suppl 1):261-7.

68. Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG, Addy M. Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentine: a model in situ using toothpastes of different abrasivity. J Clin Periodontol. 2003;30(9):802-8.

69. West NX, Hooper SM, O'Sullivan D, Hughes N, North M, Macdonald EL, et al. In situ randomised trial investigating abrasive effects of two desensitising toothpastes on dentine with acidic challenge prior to brushing. J Dent. 2012;40(1):77-85.

70. Miller CD. Enamel erosive properties of fruits and various beverages. J Am Diet Assoc. 1952;28(4):319-24.

71. Meurman JH, Harkonen M, Naveri H, Koskinen J, Torkko H, Rytomaa I, et al. Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect. Scand J Dent Res. 1990;98(2):120-8.

72. West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. J Oral Rehabil. 2000;27(10):875-80.

73. Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. Occup Med (Lond). 2007;57(3):169-76.

74. Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. Caries Res. 2001;35(3):216-22.

75. Attin T, Siegel S, Buchalla W, Lennon AM, Hannig C, Becker K. Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: an in situ study. Caries Res. 2004;38(1):62-6.

76. Wiegand A, Kowing L, Attin T. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. Arch Oral Biol. 2007;52(11):1043-7.

77. Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. Eur J Oral Sci. 2003;111(5):428-33.

78. Bassiouny MA, Yang J. Influence of drinking patterns of carbonated beverages on dental erosion. Gen Dent. 2005;53(3):205-10.

79. Buzalaf MA, de Moraes Italiani F, Kato MT, Martinhon CC, Magalhaes AC. Effect of iron on inhibition of acid demineralisation of bovine dental enamel in vitro. Arch Oral Biol. 2006;51(10):844-8.

80. Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MA. Development of an orange juice surrogate for the study of dental erosion. Braz Dent J. 2011;22(6):473-8.

81. O'Sullivan EA, Curzon ME. Salivary factors affecting dental erosion in children. Caries Res. 2000;34(1):82-7.

82. Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, et al. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. Caries Res. 2006;40(3):218-23.

83. Borges AB, Scaramucci T, Lippert F, Zero DT, Hara AT. Erosion protection by calcium lactate/sodium fluoride rinses under different salivary flows in vitro. Caries Res. 2014;48(3):193-9.

84. Lussi A, Jaeggi T. Erosion--diagnosis and risk factors. Clin Oral Investig. 2008;12 Suppl 1:S5-13.

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

86. Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MA, Hara AT, Siqueira WL. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. Arch Oral Biol. 2014;59(6):631-8.

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

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

89. Engelen L, de Wijk RA, Prinz JF, van der Bilt A, Bosman F. The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. Physiol Behav. 2003;78(1):165-9.

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

91. Rytomaa I, Jarvinen V, Kanerva R, Heinonen OP. Bulimia and tooth erosion. Acta Odontol Scand. 1998;56(1):36-40.

92. Bardow A, Lykkeaa J, Qvist V, Ekstrand K, Twetman S, Fiehn NE. Saliva composition in three selected groups with normal stimulated salivary flow rates, but yet major differences in caries experience and dental erosion. Acta Odontol Scand. 2014;72(6):466-73.

93. Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. Eur J Oral Sci. 2005;113(1):2-13.

94. Nieuw Amerongen AV OC, Driessen AA. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. Caries Res. 1987;21(4):297-309.

95. Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, De Vrese M. Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization--an in situ pilot study. Clin Oral Investig. 2003;7(3):158-61.

96. Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. J Dent. 1999;27(5):333-9.

97. Hannig C, Becker K, Hausler N, Hoth-Hannig W, Attin T, Hannig M. Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion - an ex vivo pilot study. Arch Oral Biol. 2007;52(5):444-9.

98. Wetton S, Hughes J, West N, Addy M. Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study in vitro. Caries Res. 2006;40(3):213-7.

99. Ganss C, Schlueter N, Klimek J. Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions--A comparison of in vitro and in situ results. Arch Oral Biol. 2007;52(1):9-14.

100. Buzalaf MA, Pessan JP, Honorio HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. Monogr Oral Sci. 2011;22:97-114.

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

102. Wiegand A, Magalhaes AC, Attin T. Is titanium tetrafluoride (TiF4) effective to prevent carious and erosive lesions? A review of the literature. Oral Health Prev Dent. 2010;8(2):159-64.

103. Lussi A, Carvalho TS. The future of fluorides and other protective agents in erosion prevention. Caries Res. 2015;49 Suppl 1:18-29.

104. Sorvari R, Meurman JH, Alakuijala P, Frank RM. Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. Caries Res. 1994;28(4):227-32.

105. 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.

106. Wiegand A, Waldheim E, Sener B, Magalhaes AC, Attin T. Comparison of the effects of TiF4 and NaF solutions at pH 1.2 and 3.5 on enamel erosion in vitro. Caries Res. 2009;43(4):269-77.

107. Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions--a review. Oral Health Prev Dent. 2003;1(4):245-53.

108. Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. Caries Res. 2006;40(2):148-53.

109. Babcock FD, King JC, Jordan TH. The reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite. J Dent Res. 1978;57(9-10):933-8.

110. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Effect of stannous and fluoride concentration in a mouth rinse on erosive tissue loss in enamel in vitro. Arch Oral Biol. 2009;54(5):432-6.

111. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. In vitro efficacy of experimental tin- and fluoride-containing mouth rinses as anti-erosive agents in enamel. J Dent. 2009;37(12):944-8.

112. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of an experimental tin-F-containing solution in erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. Caries Res. 2009;43(6):415-21.

113. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of tin-containing solutions on erosive mineral loss in enamel and dentine in situ. Clin Oral Investig. 2011;15(3):361-7.

114. 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;68(3):180-4.

115. Hove L, Holme B, Ogaard B, Willumsen T, Tveit AB. 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.

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

117. Lepri TP, Colucci V, Turssi CP, Corona SA. Permeability of eroded enamel following application of different fluoride gels and CO2 laser. Lasers Med Sci. 2013;28(1):235-40.

118. Tveit AB, Klinge B, Totdal B, Selvig KA. Long-term retention of TiF4 and SnF2 after topical application to dentin in dogs. Scand J Dent Res. 1988;96(6):536-40.

119. Gordon TR, Cargnello M, Paik T, Mangolini F, Weber RT, Fornasiero P, et al. Nonaqueous synthesis of TiO2 nanocrystals using TiF4 to engineer morphology, oxygen vacancy concentration, and photocatalytic activity. J Am Chem Soc. 2012;134(15):6751-61.

120. Umoren SA, Eduok UM. Application of carbohydrate polymers as corrosion inhibitors for metal substrates in different media: A review. Carbohydr Polym. 2016;140:314-41.

121. 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 Res. 2012;46(1):55-61.

122. 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.

123. Scaramucci T, Joao-Souza SH, Lippert F, Eckert GJ, Aoki IV, Hara AT. Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents. Caries Res. 2016;50(2):104-10.

124. 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(12):1302-6.

125. Manarelli MM, Moretto MJ, Sassaki KT, Martinhon CC, Pessan JP, Delbem AC. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion. Am J Dent. 2013;26(6):307-12.

126. do Amaral JG, Delbem AC, Pessan JP, Manarelli MM, Barbour ME. Effects of polyphosphates and fluoride on hydroxyapatite dissolution: A pH-stat investigation. Arch Oral Biol. 2016;63:40-6.

127. Cruz NV, Pessan JP, Manarelli MM, Souza MD, Delbem AC. In vitro effect of low-fluoride toothpastes containing sodium trimetaphosphate on enamel erosion. Arch Oral Biol. 2015;60(9):1231-6.

128. Cummins D. The development and validation of a new technology, based upon 1.5% arginine, an insoluble calcium compound and fluoride, for everyday use in the prevention and treatment of dental caries. J Dent. 2013;41 Suppl 2:S1-11.

129. Prestes L, Souza BM, Comar LP, Salomao PA, Rios D, Magalhaes AC. In situ effect of chewing gum containing CPP-ACP on the mineral precipitation of eroded bovine enamel-a surface hardness analysis. J Dent. 2013;41(8):747-51.

130. Wiegand A, Attin T. Randomised in situ trial on the effect of milk and CPP-ACP on dental erosion. J Dent. 2014;42(9):1210-5.

131. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. Caries Res. 2011;45 Suppl 1:13-23.

132. Attin T, Wegehaupt FJ. Methods for assessment of dental erosion. Monogr Oral Sci. 2014;25:123-42.

133. Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. Eur J Oral Sci. 2008;116(1):60-5.

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

135. Ganss C, Hardt M, Blazek D, Klimek J, Schlueter N. Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine. Eur J Oral Sci. 2009;117(3):255-60.

136. Bardow A, Nyvad B, Nauntofte B. Relationships between medication intake, complaints of dry mouth, salivary flow rate and composition, and the rate of tooth demineralization in situ. Arch Oral Biol. 2001;46(5):413-23.

137. Navazesh M, Christensen CM. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. J Dent Res. 1982;61(10):1158-62.

138. Oliveira TA. Comparação da ação de princípios ativos incorporados a um enxaguatório bucal na prevenção/controle da erosão dental [Dissertação de Mestrado]. Brasil: Universidade de São Paulo; 2011.

139. Fenn EE, Moilanen DE, Levinger NE, Fayer MD. Water dynamics and interactions in water-polyether binary mixtures. J Am Chem Soc. 2009;131(15):5530-9.

140. Ashland. http://www.ashland.com Kentucky2016 [cited 2016 24/08/2016]. Available from: .

141. Pai N, McIntyre J, Tadic N, Laparidis C. Comparative uptake of fluoride ion into enamel from various topical fluorides in vitro. Aust Dent J. 2007;52(1):41-6.

142. Rolla G, Ellingsen JE. Clinical effects and possible mechanisms of action of stannous fluoride. Int Dent J. 1994;44(1 Suppl 1):99-105.

143. Algarni AA, Lippert F, Hara AT. Efficacy of stannous, fluoride and their their combination in dentin erosion prevention in vitro. Braz Oral Res. 2015;29.

144. Algarni AA, Mussi MC, Moffa EB, Lippert F, Zero DT, Siqueira WL, et al. The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. PLoS One. 2015;10(6):e0128196.

145. Hannig M, Balz M. Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. Caries Res. 2001;35(2):142-8.

146. Batista GR, Rocha Gomes 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.

147. Ganss C, Lussi A, Sommer N, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine. Caries Res. 2010;44(3):248-52.

148. 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.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa: "**Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme**".

Aluno: Sávio José Cardoso Bezerra (e-mail: saviocbezerra@hotmail.com)
Orientadora: Profa. Dra. Tais Scaramucci (tais_sca@hotmail.com)
Telefone para contato: (11) 9-8723-6415 (Sávio)
Instituição/Departamento: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo/ Departamento de Dentística
Local da coleta de dados: Laboratório de Pesquisa Aplicada à Dentística Prof. Lincoln Steagall.
Este documento será laborado em duas vias.

Prezado (a) Sr.(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desse estudo de forma totalmente **voluntária**. Esse estudo tem como objetivo avaliar o efeito de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme na proteção contra a erosão do esmalte e dentina.

Sua participação nesta pesquisa consistirá na doação de saliva. Todas as coletas serão realizadas 1 h após o café da manhã. No recrutamento, a coleta salivar será realizada somente para a detecção de eventuais reduções de fluxo salivar. Nesse momento, serão realizadas coletas de fluxo salivar não estimulado e estimulado, com a mastigação de um pedaço de parafilme. Para o fluxo não estimulado, você deverá ficar em repouso por 5 min. Após esse período, você deverá ficar com a cabeça levemente abaixada e cuspir a saliva presente na boca no tubo de coleta por mais 5 min. A saliva não deve ser engolida em nenhum momento. Para o fluxo estimulado, você deverá mastigar um pedaço de parafilme por 1 min. Após esse período, a saliva presente na boca deve ser engolida e a mastigação do parafilme deve continuar, porém a saliva deve ser cuspida no tubo de coleta. Essa coleta terá duração de 2 min. Após a coleta do recrutamento, será realizada a coleta da saliva para o estudo em si. Para essa coleta, você (o voluntário) deverá bochechar água destilada por 30 segundos, cuspir e estimular a salivação através da mastigação de parafilme por 30 segundos. Após engolir essa

saliva, a coleta se iniciará e terá a duração de, no máximo, 10 minutos. As coletas serão realizadas em 20 dias, nos mesmos horários e no mesmo local, com temperatura ambiente. A saliva será coletada em tubos de centrífuga que ficarão imersos em gelo durante todo o período.

Antes de concordar em participar desta pesquisa, é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento, que possui **duas cópias**, uma ficará com os pesquisadores e outra com você, caso decida participar na pesquisa. Ambas cópias deverão estar assinadas.

Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes que você decida participar. Você tem o direito de **desistir** de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade.

O **objetivo** desse estudo é avaliar o efeito de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme na proteção contra a erosão do esmalte e dentina.

Justificativa: O desgaste dentário por erosão é um processo multifatorial que está muito presente nos dias atuais e que, ao longo do tempo, pode prejudicar o estado de saúde da dentição e comprometer o bem-estar do paciente. Clinicamente, o processo de erosão se apresenta como uma perda inicial de brilho na superfície do dente, seguida de planificação das estruturas convexas. Com a contínua exposição aos ácidos, concavidades se formam nas superfícies lisas e escavações são observadas nas superfícies incisais e oclusais. Em estágios mais avançados, o desgaste erosivo pode causar comprometimento severo da morfologia dentária, com prejuízo estético e perda da dimensão vertical. Além disso, a exposição da dentina pode resultar em sintomatologia dolorosa, a qual é chamada de hipersensibilidade dentinária. Frente a isso, estudos avaliando a ação e durabilidade desses tratamentos in vitro são importantes e oportunos. O uso de saliva humana nesses estudos ajudam a mimetizar a condição oral com mais fidelidade.

Tempo: A coleta da saliva será realizada na sessão de recrutamento e em mais 19 sessões, por um período de aproximadamente 20 min por sessão.

Benefícios: Este estudo ajudará a avaliar se os polímeros formadores de filme terão algum aumentar os efeitos protetores da combinação flúor e estanho contra a erosão dentária. Não há benefícios diretos para você, o voluntário.

Riscos: A sua participação na pesquisa não acarretará em nenhum risco de ordem física ou psicológica.

Ajuda de Custos: 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.

Auxílio a transporte: Caso o participante necessite estar presente no local da pesquisa, apenas por conta da pesquisa, os pesquisadores responsáveis arcarão com os custos necessários.

Sigilo. As informações fornecidas por você serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Os sujeitos da pesquisa não serão identificados em nenhum momento, mesmo quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer forma.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (Av. Lineu Prestes 2227, 05508-000 São Paulo, telefone 3091-7960 ou pelo e-mail cepfo@usp.br)".

Após ter sido informado e ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pelo pesquisador concordo em participar de forma voluntária desta pesquisa.

Agradecemos a contribuição e a atenção,

_____ _____

Sávio José Cardoso Bezerra, CROSP: 105399 Assinatura

_____ _____

Profa. Dra. Tais Scaramucci, CROSP: 90363 Assinatura

_____ _____ _____

Nome do participante por extenso Número do RG Assinatura participante

São Paulo, ___/___/___

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme

Pesquisador: Sávio José Cardoso Bezerra

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 45535415.6.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.235.230

Apresentação do Projeto:

Avaliar o efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio (225 ppm F), cloreto de estanho (800 ppm Sn), alguns copolímeros formadores de filme e suas combinações. A água deionizada será utilizada como controle negativo. As soluções serão testadas em um modelo de erosão-remineralização, utilizando espécimes de esmalte e dentina, obtidos de incisivos bovinos (n=10 para cada substrato). Antes do início da ciclagem, os espécimes serão expostos a saliva humana clarificada por 24 hs. A ciclagem consistirá de 5 min de imersão no ácido cítrico a 0,3% (pH=2,6), seguido de 60 min de remineralização em saliva humana. Esse procedimento será repetido 4 vezes ao dia, por 5 dias.

O tratamento com as soluções teste será realizado 2 vezes ao dia, 30 min após o primeiro e o último desafios erosivos, por 2 min. Durante o período noturno, os espécimes ficarão armazenados em saliva humana. Ao final do experimento, a perda superficial dos espécimes (em m) será avaliada com um perfilômetro ótico. Os dados de perda de superfície serão então submetidos à análise estatística apropriada (=0,05). Como um experimento adicional, 3 espécimes de cada grupo serão tratados com as soluções teste e avaliados, qualitativamente, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.235.230

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo desse estudo é avaliar o efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme no esmalte e dentina.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Benefício avaliado, porém, existe um risco mínimo, e nesse projeto assinala que não acarretará nenhum.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todos os questionamentos foram respondidos a contento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: Folha de Rosto, TCLE, Projeto de Pesquisa e Autorização do uso do Laboratório de Pesquisa Aplicada à Dentística Prof. Lincoln Steagall.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Folha de Rosto	digitalizar0005.jpg	22/05/2015 13:29:43		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_523724.pdf	22/05/2015 13:30:48		Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	22/05/2015	Sávio José Cardoso	Aceito

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.235.230

Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	13:30:48	Bezerra	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_523724.pdf	26/05/2015 13:06:46		Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	26/05/2015 13:06:52	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	24/06/2015 15:22:24	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	24/06/2015 15:23:52	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Outros	digitalizar0001(1).pdf	25/06/2015 21:28:04		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_523724.pdf	25/06/2015 21:28:37		Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	25/06/2015 21:28:38	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	25/06/2015 21:29:09	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Outros	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	04/08/2015 08:11:27	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_Savio_corrigido_CEP.doc	20/08/2015 13:12:25	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido_Revisado_3_Doacao_Saliva_humana.doc	20/08/2015 13:12:45	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Outros	Resposta_CEP_2.docx	20/08/2015 13:13:23	Sávio José Cardoso Bezerra	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_523724.pdf	20/08/2015 13:13:49		Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 18 de Setembro de 2015

Assinado por:
Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética no Uso de Animais

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Comissão de Ética no Uso de Animais
Tel. (11) 3091 7842
ceuafo@usp.br

Fundada em 1900
"Em constante busca da excelência"

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo CEUA/FOUSP **Nº 022/2015** referente ao projeto intitulado: **"Avaliação do efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio, cloreto de estanho e alguns copolímeros formadores de filme em esmalte e dentina bovinos"** sob a responsabilidade de execução dos autores **Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin** e do aluno **Sávio José Cardoso Bezerra**, foi analisado na presente data e considerado isento de análise da CEUA por utilizar material de origem animal, dentes bovinos provenientes de frigorífico.

São Paulo, 03 de agosto de 2015.

Prof. Dr. Victor Elias Arana-Chavez
Presidente da CEUA/FOUSP