SÁVIO JOSÉ CARDOSO BEZERRA

**Efeito de uma película híbrida experimental aditivada com fluoreto de sódio e
cloreto de estanho no desgaste erosivo**

São Paulo

2019

SÁVIO JOSÉ CARDOSO BEZERRA

**Efeito de uma película híbrida experimental aditivada com fluoreto de sódio e
cloreto de estanho no desgaste erosivo**

Versão Corrigida

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

Orientador: Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin

São Paulo

2019

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

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

Bezerra, Sávio José Cardoso.

Efeito de uma película híbrida experimental aditivada com fluoreto de sódio e cloreto de estanho no desgaste erosivo / Sávio José Cardoso Bezerra; orientador Taís Scaramucci Forlin -- São Paulo, 2019.

73 p. : tab., fig. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – 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. Abrasão dentária. 3. Perfilometria. 4. Fluoretos. 5. Coberturas inteligentes. I. Forlin, Taís Scaramucci. II. Título.

Bezerra SJC. Efeito de uma película híbrida experimental aditivada com fluoreto de sódio e cloreto de estanho no desgaste erosivo. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: 07/02/2020

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. Dr. Anderson Takeo Hara

Instituição: Faculdade de Odontologia da Universidade de Indiana – Indianápolis -

EUA Julgamento: Aprovado

Prof(a). Dr(a). Ana Cecília Corrêa Aranha

Instituição: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – USP

Julgamento: Aprovado

Dedico este trabalho aos meus pais, **Ana e Orly**, que sempre fizeram de tudo para realizar o meu sonho. O apoio de vocês foi fundamental para que alcançasse mais esse objetivo. Obrigado por acreditarem em mim e por me fazerem ser o homem que sou hoje. Vocês me inspiraram a sempre buscar na educação o melhor de mim. Sei de todo esforço que fizeram e ainda fazem pelos filhos, serei eternamente grato. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Ana e Orly**, pelo apoio incondicional que sempre depositaram em mim, meu maior objetivo foi sempre orgulhar vocês. Obrigado por me permitirem realizar mais esse sonho e por sempre estarem torcendo por mim. Saber que posso contar com vocês me dar forças e me faz quer sempre ir em busca dos meus objetivos. Amo muito vocês!

Aos meus irmãos **Alonso, Solon e Saulo**, que sempre foram meus maiores torcedores e incentivadores. Tenho muita sorte de ter irmãos como vocês. Obrigado por todo apoio e vibração.

Às minhas avós **Maria e Zizi** (*in memoriam*) que sempre se dedicaram à família ensinando a todos a importância do amor em família e que sempre o foi feito com amor e dedicação, será bem feito.

Aos meus sobrinhos e afilhados, **Solonzinho, Cauã, Lippe, Noah, Lara, Lucca, Théo, Rafael e Ana Caroline**, era o sorriso de vocês que eu buscava nos meus momentos mais difíceis, pois assim que eu conseguia recarregar minhas forças pra continuar buscando meu objetivo final.

Aos meus tios e tias, em especial à minha madrinha **Tita** e minha tia **Fátima**, que sempre foram mães na minha vida, cuidando de mim, apoiando e dando o carinho que sempre precisei. Obrigado pela torcida, pela dedicação e inspiração. Eu amo vocês!

Aos meus primos e primas, em especial **Renata, Paula e Fernando**, que foram sempre como irmãos pra mim. Vocês são essenciais na minha vida e cada conquista minha é compartilhada com vocês pois é por vocês que eu sempre luto. Sei que sempre terei vocês na minha vida, assim como vocês tem a mim para tudo!

Aos meus amigos de infância, que acompanharam toda a minha trajetória, sempre vibrando, torcendo e acreditando em mim quando até eu não acreditava que seria

capaz. **Arthur, Leandro, João, Beto, Thainá, Lorena, Rayssa, Carol, Camila, Paula e Clodoaldo** é uma felicidade extrema ter vocês na minha vida em todos esses momentos. Obrigado por estarem sempre ao meu lado, apesar da distância física.

À minha orientadora, **Profª Drª Taís Scaramucci**, você não imagina o orgulho que eu sinto em contar que sou seu orientado, e ainda mais, o primeiro de todos! Obrigado por acreditar em mim e principalmente no meu trabalho, obrigado por todas oportunidades e orientações de vida! De orientadora você se tornou um exemplo de profissional que eu quero ser na vida! Você enxergou em mim o que nem eu enxergava e não acreditava que era capaz. Serei eternamente grato a você!

Aos meus irmãos de orientadora, **Alana, Itallo, Letícia, Diana, Léo e Laís**, dividir a orientadora e compartilhar trabalhos com vocês foi uma honra, foram momentos incríveis que me fizeram crescer e amadurecer profissionalmente e também pessoalmente. Obrigado por toda parceria e companheirismo, vocês tornaram meus dias mais alegres.

Aos meus amigos da pós-graduação e forasteiros, **Carlos, Eric, Ju Couto, Samuel, Iandara, Lucas, Érika, Olívia, Amanda Willers, Fernanda, Giovanni, Juan, Hermano, Amanda Cavalcante, Bruna, Carol, Ju Pereira, Karin, Stephanie, Sandra, Tainá, Claudia, Laís, Paula e Luiza**, vocês deixaram os dias da pós graduação mais leves e sem dúvidas, mais alegre. Vocês tornaram tudo mais fácil. Obrigado pela companhia, conselhos, conversas, momentos de alegrias e descontração. Levo vocês pra sempre na minha vida e no meu coração!

Aos amigos que fiz na graduação **Mari, Lúcia, Fernando e Keury**. Como em vários momentos na minha vida, nessa jornada não foi diferente e vocês se fizeram presente em mais esse momento. Sem dúvidas o apoio e a torcida de vocês foram fundamentais para essa conquista.

À **Profa. Dra. Idalina Vieira Aoki**, e todo Laboratório de Eletroquímica e Corrosão do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP, obrigado por mais essa parceria de sucesso, é sempre grandioso trabalhar com você e sua equipe,

cada conversa era uma aula. Obrigado por sempre atender meus pedidos de ajuda e sanar todas as minhas dúvidas com toda paciência do mundo.

Ao **Prof. Dr. Anderson Takeo Hara**, obrigado por ter me aceitado como aluno e ter me acolhido tão bem no seu laboratório. Foi uma honra trabalhar ao seu lado e sem dúvidas uma das oportunidades mais grandiosas da minha vida. Obrigado pela amizade e parceria. Serei sempre grato a tudo o que você fez por mim.

À **Profª Drª Simone Duarte**, por ter me recebido de braços abertos no seu laboratório e ter me ensinado tanto sobre microbiologia e sobre a vida. Nossos cafés regados à conversas ficarão pra sempre no meu coração.

À **Indiana University Purdue University of Indianapolis** e todos os funcionários do **Oral Health Research Institute** em especial ao **Adam Kelly** que foi um grande companheiro e parceiro de laboratório durante todo o período que estive por lá. Sua paciência e ajuda foram fundamentais para essa experiência maravilhosa.

A todos amigos que fiz em Indianápolis, Bruna, Carol, Bia, Victor e Adaias. Desfrutar dessa experiência junto com vocês tornou tudo mais especial. Obrigado pela força durante todo esse período.

A todos os **professores do Departamento de Dentística**, obrigado por sempre estarem me orientando, ajudando e aconselhando, vocês são exemplos de mestres que eu quero ser.

Aos **funcionários do Departamento de Dentística**, Aldo, David, Leandro, Selminha e Silvana, sem a ajuda de vocês não conseguiria concluir o trabalho. Obrigado pela paciência e prontidão em sempre ajudar todos os pós graduandos.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, representada pelo seu diretor Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha.

À **Universidade de São Paulo**, na pessoa do Magnífico Reitor, Prof. Dr. Vahan Agopyan.

À **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo apoio financeiro nos processos #2017/13855-5 #2018/06251-9 # 2017/14691-6.

"Não deveria haver fronteiras ao esforço humano. Por pior que a vida parece,
enquanto houver vida, haverá esperança"

Stephen Hawking

RESUMO

Bezerra SJC. Efeito de uma película híbrida experimental aditivada com fluoreto de sódio e cloreto de estanho no desgaste erosivo [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2019. Versão Corrigida.

Esse estudo teve os seguintes objetivos: 1. Formular uma película híbrida e testar o seu efeito contra erosão e erosão-abrasão em esmalte e dentina; 2. Modificar essa película com a adição de fluoreto e estanho, encapsulados ou não, e testar os seus efeitos no desgaste dental erosivo. A retenção da película híbrida ao substrato dentário foi testada e sua presença avaliada em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Depois, foi realizada a aditivação dessa película com fluoreto de sódio (15.000 ppm de F-) ou fluoreto de sódio mais cloreto de estanho (10.000 ppm de Sn²⁺). A aditivação foi realizada de maneira direta ou encapsulada. A quantidade de fluoreto e de estanho liberada pelas nano cápsulas (argilas haloisita e bentonita, respectivamente), em meio ácido (ácido cítrico 0,3%, pH=2,6) e meio neutro (saliva artificial), foi avaliada por meio de eletrodo seletivo de F- e espectrometria de emissão atômica, respectivamente, após imersão por 1, 3, 5, 12, 24 e 48 h. Em seguida, espécimes de esmalte e dentina, obtidos de incisivos bovinos, foram submetidos aos tratamentos e testados em uma ciclagem erosão e erosão-abrasão (n=10 para cada substrato, para cada ciclagem). A água deionizada foi utilizada como controle negativo e um verniz fluoretado (Flúor Protector, 1000 ppm F-) como positivo. A ciclagem erosiva consistiu em 5 min de imersão em ácido cítrico a 0,3%, seguido de 60 min de remineralização em saliva artificial, 4 vezes ao dia, por 5 dias. Para a ciclagem de erosão-abrasão, o mesmo protocolo foi seguido, porém, os espécimes foram escovados em uma máquina de escovação, após o primeiro e último desafios erosivos, com uma suspensão de dentífrico fluoretado e água (1:3), por 15 s (45 movimentos), com 2 min de exposição total à suspensão. Ao final do experimento, a perda superficial dos espécimes (em µm) foi avaliada em perfilômetro ótico. Os dados foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis, Dunn e Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). Na MEV, foi possível observar a presença da película sobre os substratos dentários. As argilas conseguiram armazenar os compostos, apresentando uma maior liberação de F- e Sn²⁺ em meio ácido em relação ao meio neutro em todos os tempos. No modelo

de erosão, para o esmalte, os grupos película híbrida sem aditivos e o controle positivo, apresentaram significativamente menor perda superficial do que o controle negativo ($p < 0,05$), sem diferença entre eles ($p = 1$). Os outros grupos não se diferenciaram significativamente do controle negativo ($p > 0,05$). Para dentina, todos os as películas híbridas testadas e o controle positivo apresentaram significativamente menor perda superficial do que o controle negativo ($p < 0,05$), com exceção dos grupos película híbrida com fluoreto encapsulado e película híbrida aditivada com fluoreto e estanho, os quais não diferenciaram também entre si ($p > 0,05$). Para o modelo de erosão-abrasão, nenhum grupo apresentou perda superficial significativamente menor do que controle negativo, para ambos substratos. A película híbrida foi capaz de se aderir aos substratos dentários e de protegê-los contra erosão, independente da sua aditivação. Entretanto, nenhum dos aditivos testados foi eficaz no controle do desgaste dental erosivo no esmalte e na dentina.

Palavras-chave: Erosão. Abrasão. Perfilometria. Fluoretos. Coberturas inteligentes.

ABSTRACT

Bezerra SJC. Effect of experimental coating with sodium fluoride and stannous chloride on erosive tooth wear [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2019. Versão Corrigida.

The aims of this study were: 1. To formulate a hybrid coating and test its effect against enamel and dentin erosion and erosion-abrasion; 2. To modify the hybrid coating with the addition of fluoride and stannous, encapsulated or not, and thereafter test their effects against erosion and erosion-abrasion. The retention of the hybrid film to the dental substrate was evaluated by Scanning Electron Microscopy (SEM). Then, sodium fluoride (15,000 ppm F) or sodium fluoride plus tin chloride (10,000 ppm Sn) were added on the polymeric film. The addition of the agents was performed by direct or encapsulated means. The amounts of fluorine and tin chloride released by the nano-capsules (halloysite and bentonite, respectively), in acidic (citric acid 0.3%, pH=2.6) and neutral media, were evaluated by an ion selective electrode and atomic emission spectrometry, respectively, 1, 3, 5, 12, 24 and 48 h after immersion. Then, the enamel and dentin specimens, obtained from bovine incisors, were subjected to the treatments and tested in erosion and erosion-abrasion cycling models (n = 10 for each substrate, for each model). Deionized water was used as a negative control and a fluoride varnish (Fluor Protector, 1000 ppm F-) was used as positive control. Erosive cycling consisted of 5 min of immersion in 0.3% citric acid (pH = 2.6), followed by 60 min of remineralization in artificial saliva, 4 times a day for 5 consecutive days. For the erosion-abrasion cycling, the same protocol was used, however, the specimens were brushed on a brushing machine after the first and last erosive challenges with a fluoridated toothpaste and water slurry (1:3) for 15 sec (45 strokes), with 2 min total suspension exposure. At the end of the cycling, the tooth surface loss (in μm) was evaluated by optical profilometry. Data were analyzed by Kruskal-Wallis, Dunn and Mann-Whitney tests ($\alpha=0.05$). The SEM analysis showed the presence of the hybrid coating as a film over the dental substrates. The clays were able to store the anti-erosive agents, presenting a greater release of F⁻ and Sn²⁺ in acid medium in relation to the neutral one, at all times. For enamel, in the erosion model, the hybrid coating and positive control showed significantly less SL than negative control ($p<0.05$),

without difference between them ($p=1$). The other groups did not significantly differ from the negative control ($p>0.05$). For dentin, all the hybrid coatings tested and the positive control showed significantly less surface loss than the negative control ($p<0.05$), except the groups hybrid coating with encapsulated fluoride and hybrid coating with fluoride and stannous, which did not differ from each other ($p>0.05$). For the erosion-abrasion model, none of the groups showed significantly lower SL than negative control, for both substrates. The hybrid coating was able to adhere to dental substrate and protect them from erosion, regardless of the addition of the agents. However, none of the treatments tested was effective on protection of erosive tooth wear on enamel and dentin.

Keywords: Erosion. Abrasion. Profilometry. Fluorides. Smart coatings.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Secção dos espécimes.....	40
Figura 4.2 - Inclusão e polimento dos espécimes	40
Figura 4.3 - Perfilômetro ótico e uma imagem representativa da superfície dos espécimes escaneada com os parâmetros descritos	47
Figura 5.1 - Micrografias representativas da interface do esmalte e da película híbrida	49
Figura 5.2 - Micrografias representativas da interface da dentina e da película híbrida	50
Figura 5.3 - Médias (desvios padrão) de F ⁻ (em mg/ml) liberados pela haloisita em ambos meios analisados.....	51
Figura 5.4 - Médias (desvios padrão) de Sn ²⁺ (em mg/ml) liberados pela bentonita em ambos meios analisados.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Sequência diária da ciclagem erosiva-abrasiva	46
Tabela 5.1- Médias (desvios padrão) de F ⁻ (em mg/ml) liberados pela haloisita em ambos meios analisados.....	50
Tabela 5.2- Médias (desvios padrão) de Sn ²⁺ (em mg/ml) liberados pela bentonita em ambos meios analisados.....	51
Tabela 5.3- Medianas e intervalos interquartis da PS (em µm) de esmalte após ciclagem para os grupos experimentais, em cada desafio (n=10, para cada desafio).	53
Tabela 5.4- Mediana e intervalo interquartil da PS (em µm) de dentina após ciclagem.....	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	27
2.1	DESGASTE EROSIVO	27
2.2	PREVENÇÃO E TRATAMENTOS	29
2.3	PELÍCULA HÍBRIDA	32
2.4	ENCAPSULAMENTO	34
3	PROPOSIÇÃO	37
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1	ASPECTOS ÉTICOS	39
4.2	PREPARO DOS ESPÉCIMES	39
4.3	PREPARO DA SOLUÇÃO HÍBRIDA.....	40
4.4	FASE 1	41
4.4.1	Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura da presença da película	41
4.4.2	Encapsulamento e liberação de Sn	42
4.4.3	Encapsulamento e liberação de F	42
4.5	FASE 2	43
4.5.1	Delineamento experimental	43
4.5.2	Preparo dos espécimes	43
4.5.3	Lesão inicial	44
4.5.4	Tratamentos.....	44
4.5.5	Aplicação do tratamento	45
4.5.6	Ciclagem erosiva e erosiva-abrasiva	45
4.5.7	Avaliação da perda superficial	46
4.5.8	Análise de dados.....	47
5	RESULTADOS	49
5.1	FASE 1	49
5.2	FASE 2	52
6	DISCUSSÃO	55
7	CONCLUSÃO	59

REFERÊNCIAS	61
ANEXOS	73

1 INTRODUÇÃO

O desgaste dental erosivo (DDE) é uma condição de origem multifatorial que afeta grande parte da população mundial e resulta em perda parcial ou total das estruturas duras dentárias (1). Estudos epidemiológicos relatam valores de prevalência que variam de 25,43 a 78,8% em crianças (2–4) e de 38 a 45,9% em adolescentes e adultos jovens (5,6). De acordo com uma revisão sistemática e meta análise de regressão, a prevalência estimada de desgaste dental erosivo nos dentes permanentes de crianças e adolescentes foi de 30,4%, porém, os autores relatam uma grande heterogeneidade nos estudos (7). Não há muitos estudos de prevalência de desgaste dental erosivo em adultos, possivelmente porque essa é uma população mais difícil de ser recrutada do que as crianças e adolescentes e também o diagnóstico é mais difícil nessa população (8).

Definida como a dissolução química dos dentes pela ação de ácidos não-bacterianos (9,10), o DDE pode ser causado por ácidos de origem intrínseca, como o ácido clorídrico proveniente do suco gástrico, que atinge a cavidade oral com frequência em casos de distúrbios gástricos, como refluxo, ou em distúrbios alimentares, como a bulimia (11). Esses ácidos também podem ser de origem extrínseca, comumente presentes na dieta, sendo esse um fator relevante para o desenvolvimento da erosão nos dias atuais, devido ao aumento no consumo de bebidas ácidas observado nas populações (1). Clinicamente, o processo de desgaste dental erosivo ocorre, muito provavelmente, pela associação entre desafios químicos e mecânicos (12).

Por se tratar de um processo que envolve fatores químicos, biológicos e comportamentais em sua etiologia, as medidas preventivas adotadas contra o desgaste erosivo devem levar em consideração todos esses fatores (13). Primeiramente, deve-se tentar eliminar ou reduzir o principal agente causador, seja ele de origem intrínseca, extrínseca, ou a combinação de ambos (13,14). Entre as medidas de prevenção e controle mais indicados está a aplicação tópica de produtos fluoretados (15–18).

Os fluoretos como agentes anti-erosivos têm sido investigados sob diferentes formas (fluoreto de sódio, fluoreto de amina, fluoreto de estanho e tetrafluoreto de titânio), apresentações (enxaguatórios, dentifrícios, géis e vernizes) e concentrações.

Compostos fluoretados monovalentes, como o fluoreto de sódio (NaF) e o fluoreto de amina (AmF), possuem uma certa eficácia na proteção do substrato dentário contra o desgaste erosivo, a qual é provavelmente conseguida por meio da formação de precipitados globulares semelhantes ao fluoreto de cálcio (CaF_2). Porém, a formação desses depósitos vai depender de alguns fatores (19,20). Sabe-se que produtos contendo concentrações mais elevadas de fluoretos, com uma maior frequência de aplicação, e com menor pH, podem levar a uma maior deposição desses compostos globulares (20).

Estudos recentes têm focado na investigação dos compostos fluoretados polivalentes contendo cátions metálicos, como o fluoreto de estanho (SnF_2) e tetrafluoreto de titânio (TiF_4), os quais têm demonstrado uma proteção superior contra o desgaste erosivo (21). Em relação aos produtos contendo fluoretos e o estanho, além da formação de precipitados semelhantes ao CaF_2 , também há a formação de outros precipitados ácido-resistentes, como o Sn_2OHPO_4 , $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$, e $\text{Ca}(\text{SnF}_3)_2$ (22), os quais são responsáveis por formar uma camada superficial protetora mais estável (18-20). Adicionalmente, o estanho pode ser incorporado na superfície dentária, aumentando a sua resistência à desmineralização (23–26). Assim como os fluoretos, isoladamente, o estanho também exerce uma certa proteção contra a erosão, porém, quando associado com fluoretos, essa proteção se torna mais eficaz (24,27–29).

No entanto, deve ser ponderado que, mesmo os produtos contendo a associação de fluoretos com estanho necessitam de frequente aplicação, pois sua proteção pode ter curta duração, considerando o ambiente altamente erosivo no qual eles são comumente expostos. Nesse sentido, agentes ou materiais que possam aumentar a substantividade desses compostos no meio, e ainda assim, promover uma proteção mecânica, seriam de grande valia no controle da progressão do desgaste erosivo.

Na engenharia, geralmente é utilizado um revestimento fino e incolor sobre a superfície dos metais, que tem a função de proteção contra corrosão e, também, de promover a adesão do metal às tintas (30). As coberturas resultantes do tratamento com as soluções híbridas, solução formada pela reação sol-gel de substâncias orgânica-inorgânica, que possuem uma estrutura densa, além de propriedades anti-manchamento, estabilidade térmica e resistência química e biológica, qualidades

derivadas de seus componentes inorgânicos. Também possuem flexibilidade, habilidade de formação de filmes e adesão, qualidades derivadas dos seus constituintes orgânicos (31).

Existe a possibilidade desses revestimentos híbridos se aderirem a superfície dentária, após um tratamento alcalino da mesma (32). Quando submetida a um tratamento alcalino, há a criação de grupos OH- na superfície dos dentes, nos locais onde os íons cálcio estão presentes. A adesão dessa película em uma superfície metálica ocorre após algumas reações químicas entre a superfície do metal e um primer de polímero. Ligações covalentes irão acontecer, e em seguida ocorrerá uma interação do grupo organo-funcional R como material polimérico do primer (33). Acredita-se que assim como nas superfícies metálicas, ligações são formadas com as estruturas dentárias, sendo elas responsáveis pela adesão química com o tecido.

Na odontologia, a utilização desse revestimento híbrido ainda foi pouco explorada (31,32,34), principalmente em tecidos dentários, porém parece ser uma alternativa muito promissora para diferentes aplicações. Em um estudo em 2016 (32), onde a película híbrida foi aplicada em discos de dentina como alternativa ao tratamento e controle da hipersensibilidade dentinária, observou-se que a película híbrida foi capaz de diminuir a permeabilidade dentinária, resistindo à desafios erosivos e abrasivos. Assim, foi despertado o interesse para se testar as películas híbridas como um possível revestimento anti-erosivo, capaz de formar uma barreira protetora contra ação dos ácidos. No entanto, faltam estudos que comprovem sua ação com essa finalidade, desafiando os substratos dentários à ciclos de erosão e abrasão mais agressivos e testem os limites desse produto.

Alguns estudos mostram que a incorporação de agentes anti-corrosivos nos revestimentos híbridos pode favorecer a ação desses agentes, principalmente quando incorporados de forma encapsulada, promovendo uma liberação sob demanda, ou seja, quando essa superfície era exposta à desafios mecânicos e químicos, ela liberava o conteúdo do interior das cápsulas, para promover a proteção da superfície exposta (35,36). Foi sugerido que revestimentos aditivados com material anticorrosivo, de maneira encapsulada, produz um melhor efeito em metais, devido a não interação dos agentes anticorrosivos com o revestimento híbrido (37). Em vista do exposto, a incorporação de agentes anti-erosivos, como fluoretos e estanho, na

película híbrida é uma alternativa promissora para o controle do desgaste erosivo, com potencial de abrir novas perspectivas para o tratamento dessa condição.

Assim, as hipóteses desse estudo são: 1. Será possível realizar o encapsulamento dos agentes fluoretados; 2. A película híbrida formulada será capaz de formar uma barreira protetora contra erosão e erosão-abrasão em esmalte e dentina; 3. A película híbrida modificada com fluoreto, ou fluoreto mais estanho, encapsulados ou não, promoverão proteção superior contra erosão e erosão-abrasão em relação a película não modificada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DESGASTE DENTAL EROSIVO

O desgaste erosivo foi, por muitos anos, uma condição de pouco interesse para os clínicos e pesquisadores. Nesse contexto, lesões em seus estágios iniciais não foram corretamente detectadas e, quando o diagnóstico era feito, pouco conhecimento havia sobre as medidas preventivas e de tratamento para essa condição. Entretanto, essa percepção mudou nos dias atuais, sendo esse assunto de relevância e motivo de muitos estudos (1). Baseado no estudo de Lussi e Carvalho, 2014 (1), após uma busca pelos termos “dental erosion”, “tooth erosion”, “erosive tooth wear”, “tooth wear”, “tooth attrition”, “tooth abrasion”, no PubMed em novembro de 2019 retornou 20.829 artigos sobre o assunto, corroborando o ganho de importância dessa condição.

Com o aumento da manutenção dos dentes na boca pela população, esses passaram a ficar mais expostos aos processos de desgaste erosivo, tornando os efeitos desse processo mais evidentes, e exigindo maiores ações preventivas e restauradoras por parte dos profissionais da odontologia (1,14).

Há um razoável número de estudos de prevalência de desgaste erosivo na literatura, porém, a falta de padronização dos índices utilizados e, também, da coleta de dados, torna difícil a comparação entre esses estudos, principalmente em adultos (38). Em uma revisão sobre a prevalência do desgaste erosivo em diferentes populações, constatou-se que a estimativa da prevalência global do desgaste erosivo seria em torno de 30% e 50%, com alguns pequenos casos fora do padrão (38).

O que se refere a origem dos ácidos, eles ser de origem intrínseca ou extrínseca (38). Isso não implica que toda pessoa exposta aos ácidos erosivos vai desenvolver o processo de desgaste erosivo, mas a exposição do dente, de forma regular e frequente, aumenta o risco do desenvolvimento desse processo (38).

De acordo com a etiologia do desgaste erosivo, alguns fatores de risco podem ser identificados e associados à maior predisposição individual de apresentar alguma alteração relacionada ao processo de desgaste erosivo (38).

Entre esses fatores podemos considerar os pacientes portadores de distúrbios gastroesofágicos, como refluxo, ou distúrbios alimentares, como a bulimia, que vão expor o ácido clorídrico, presente no suco gástrico, de forma frequente no ambiente

bucal (11). A dieta pode ser considerada um fator de risco também, pois sabemos que pacientes que apresentam uma dieta rica em frutas cítricas, ou alimentos e bebidas ácidas, podem aumentar o risco de apresentar desgaste erosivo (38). A ocupação do paciente também pode ser considerada um fator de risco, pois sabe-se que algumas profissões, como atletas de alta performance, trabalhadores de fábricas ou indústria química, sommelier de vinhos, podem estar constantemente expostos à ação de ácidos, gerando assim um aumento no risco de desenvolver desgaste erosivo (39).

A associação da ação abrasiva da escovação com a ação química dos ácidos pode agravar ainda mais o processo de perda. Quando o substrato dentário é exposto aos ácidos, uma camada amolecida é formada na superfície, sendo esta camada passível de deposição mineral, porém, se seguido da exposição ao ácido houver a ação de escovação, essa camada pode ser parcialmente removida aumentando, assim, o nível da perda de superfície (40,41).

A perda de superfície causada pela ação mecânica da escovação pode ser influenciada pela abrasividade dos dentífricos e pela espessura da camada amolecida, especialmente em esmalte (41). Alguns estudos mostraram que a ação de escovação pode potencializar a perda da superfície erodida do esmalte e da dentina (42,43). Em um estudo *in vitro*, foi observado que desafios erosivos, de curto prazo (1 a 3 min), resultam em uma camada superficial amolecida e parcialmente desmineralizada na superfície do esmalte, sendo que essa camada geralmente é parcialmente removida durante a ação de escovação (44,45). Em dentina, a dissolução mineral vai levar à exposição da sua matriz orgânica, que tem maior resistência à ação de forças mecânicas, e que pode diminuir a progressão da perda de superfície desse substrato, mesmo quando essas forças são combinadas com alterações químicas (ácidos) (46,47).

2.2 PREVENÇÃO E TRATAMENTOS

Diferentes ações preventivas podem ser adotadas para evitar a instalação e controlar a progressão do desgaste erosivo. Para estabelecer uma estratégia preventiva adequada, é preciso primeiramente identificar se o paciente faz parte de um grupo de risco (48). Sendo esse um processo multifatorial, no qual envolve diversos fatores, podendo ser nutricionais, biológicos e comportamentais, de forma

complexa (1), a primeira estratégia a ser adotada é orientação ao paciente quanto ao processo de desgaste erosivo, e também, quanto aos seus hábitos, com a finalidade de diminuir a quantidade de desafios erosivos no qual a cavidade bucal é exposta, e aumentar as medidas de proteção e defesa, gerando um maior equilíbrio no ambiente bucal (1).

A redução da exposição às substâncias ácidas é a principal medida preventiva do desgaste erosivo (13). Além disso, a frequência e o tempo de exposição da estrutura dentária à essas substâncias também é uma variável importante que deve ser considerada (49,50), por isso, pacientes com alto risco de desgaste erosivo devem ser orientados a evitar o consumo de produtos ácidos (13).

Para os pacientes com a atuação de ácidos de origem intrínseca (bulimia, refluxo e vômitos frequentes), o cirurgião dentista desenvolve um importante papel no diagnóstico dessas patologias, detectando alterações estruturais nas superfícies dentárias (13). Para esses pacientes, é importante o encaminhamento a um profissional adequado, para o controle da patologia (13).

Outra estratégia preventiva sugerida é a redução do potencial erosivo de bebidas ácidas, por meio da adição de agentes anti-erosivos como cálcio, fosfato, fluoreto e até ferro (13,51–53). Porém, mais estudos são necessários para minimizar os efeitos adversos causados por essa adição, como alteração de sabor, efeitos sistêmicos e falta de estabilidade desses produtos (13).

O uso de fluoretos na prevenção e controle da progressão do desgaste erosivo têm sido amplamente estudados. O mecanismo de ação do flúor pode ser principalmente atribuído a precipitação de partículas globulares semelhantes ao CaF_2 (14). A precipitação dessas partículas forma uma camada protetora nessa superfície, que vai funcionar como uma barreira mecânica contra a ação dos ácidos, impedido o contato direto deles com o dente (54,55). Porém, sabe-se que a formação dessa camada protetora exerce um efeito protetor limitado e dependente do pH, da concentração e do tipo de fluoreto utilizado (56). Em um estudo recente (57), foi observado que, após aplicação de soluções fluoretadas com concentrações similares às de um creme dental ou de um enxaguatório bucal, a formação dessa camada de precipitados só ocupava, até no máximo, 40% da superfície do esmalte. Portanto, pode-se sugerir que a proteção dada por esses compostos é, de certa forma, restrita (58).

Uma alternativa para o controle da progressão do desgaste erosivo é a utilização de compostos fluoretados polivalentes contendo cátions metálicos na sua composição, como o fluoreto de estanho (SnF_2) e tetrafluoreto de titânio (TiF_4). Diversos estudos já mostram a eficácia desses compostos contra a erosão (18,59), em especial a combinação de fluoreto mais estanho, que possui uma maior quantidade de evidências disponíveis sobre a sua efetividade (21). Esses compostos fluoretados promovem uma cobertura rica em precipitados metálicos (25,60,61), ou permitem a incorporação do metal no esmalte, tornando-o mais ácido resistente (42). Em ambos casos, a proteção oferecida pelos fluoretos é de curta duração em um ambiente muito erosivo, por isso, se faz necessário uma alta frequência de aplicação desses agentes (42).

Alguns desses agentes fluoretados podem ser encontrados de diferentes formas no mercado, em veículos distintos, sendo que alguns são utilizados em consultório (verniz, selante, géis) e outros podem ser utilizados de forma caseira (enxaguatórios, dentifrícios) (42). Essa distinção entre produtos caseiros e de consultório é baseada na concentração de fluoreto do produto, na frequência de aplicação que ele exige e no tipo de veículo utilizado para aplicação desse produto no ambiente bucal.

A utilização de produtos de uso caseiro, como enxaguatórios e dentifrícios, no tratamento de prevenção do desgaste erosivo vai depender principalmente da adesão do paciente ao tratamento, enquanto os produtos de uso profissional como géis, selantes e vernizes, se apresentam como uma alternativa menos paciente-dependentes (62).

Devido ao fato da erosão dentária ser um processo multifatorial e estar comumente associada a um desgaste mecânico, como atrição e/ou abrasão, agentes fluoretados, em veículos que também possam promover uma proteção mecânica ao substrato, podem oferecer uma vantagem no processo de proteção do substrato dentário (63). A utilização de vernizes fluoretados como um agente protetor no processo de erosão é uma alternativa bastante utilizada, e seu efeito protetor já foi comprovado em estudos anteriores (63–65), porém, é difícil explicar de que forma os vernizes vão interagir com a superfície do dente, pois na maioria dos estudos com vernizes, para poder avaliar a ação dos fluoretos presentes neste produto, antes da ciclagem, é feita a remoção desse verniz, e essa remoção pode comprometer a interação da superfície com os fluoretos (66).

Em um estudo anterior, onde foram avaliados vernizes fluoretados com diferentes concentrações, foi observado que uma única aplicação tópica de fluoreto em concentrações elevadas é capaz de agir, de forma positiva, protegendo a superfície do esmalte em ambientes erosivos (66). Porém, o verniz é um veículo que possui pouca resistência ao desgaste erosivo, pois não promove adesão química ao substrato dentário, podendo ser facilmente removido quando exposto ao desafio mecânico (63).

Os selantes resinosos também já foram utilizados e testados como agentes protetores do desgaste erosivo (67,68). A espessura desses selantes são consideradas razoáveis, proporcionando coberturas mais finas que o adesivo dentinário, além de promover uma proteção mais duradoura contra o desgaste erosivo (62).

Uma outra alternativa aos produtos de consultório, pode-se lançar mão da aplicação de géis fluoretados. Esses tem sido uma opção de tratamento profissional muito utilizada, geralmente contendo concentrações de fluoreto de 1,25% (42). Alguns estudos já demonstraram que esses produtos possuem um efeito protetor contra a erosão (69–71). Assim como os vernizes, o gel fluoretados apresentam a desvantagem de não permitir uma aplicação frequente (42).

Estudos mostraram que o uso de produtos fluoretados caseiros, em concentrações baixas a moderadas, como as presentes nos dentifrícios e enxaguatórios, tem um efeito preventivo limitado contra a erosão, especialmente quando o tipo de fluoreto presente é monovalente, requerendo aplicações frequentes (21,72,73). A concentração de fluoretos nesses produtos varia de acordo com a regulamentação vigente em cada país, sendo em torno de 1.500 ppm de F para os dentifrícios e 230 ppm para os enxaguatórios, no Brasil (42).

No mercado, já podem ser encontrados novos produtos com alguns ingredientes ativos na sua composição e novas formulações (74,75). Um dos requisitos dos cremes dentais é que eles sejam efetivos também durante a ação mecânica da escovação (21). Porém, no mercado brasileiro, existem poucos produtos de uso caseiro, destinado especificamente ao controle da erosão.

O momento ideal para escovação após um desafio erosivo ainda é um assunto controverso na literatura, pois alguns estudos mostram que o ideal seria aguardar de 30 a 60 min para que a saliva pudesse exercer o seu papel protetor e causar uma certa deposição mineral na camada amolecida, deixando-a mais resistente (13,76,77),

porém outros estudos mostraram que esse tempo de espera não influencia significativamente na perda de estrutura dental erodida após a escovação (78,79). Assim, parece que outros fatores podem exercer um papel modulador mais importante do que o momento da escovação, como a composição do dentífrico utilizado (13,80).

A utilização de enxaguatórios fluoretados como agentes anti-erosivos tem mostrado resultados promissores (81–83), porém alguns estudos apontam que, devido à baixa concentração presente nesse veículo, o fluoreto não foi efetivo no controle da erosão em esmalte (84,85). A associação desses fluoretos com cátions metálicos, por outro lado, torna esse veículo mais efetivo (24,81,82,86). Outra alternativa é a incorporação de agentes formadores de filme nessas soluções, como polímeros e copolímeros, que além de auxiliarem na ação protetora, podem formar uma camada protetora na superfície do dente, tornando-o mais ácido resistente (24,59,82,83,87,88).

2.3 PELÍCULA HÍBRIDA

Na engenharia de superfície, sistemas de coberturas poliméricas são normalmente aplicados nas superfícies de metais, para criar uma barreira densa protetora contra a ação de espécies corrosivas (35). Estes revestimentos são conseguidos pelo tratamento dos metais com soluções inorgânicas ou híbridas (sistema sol-gel), essas últimas com componentes inorgânicos e orgânicos, as quais possuem a habilidade de formação de filmes.

Filmes com silano na sua composição são capazes de criar uma barreira mecânica anti-corrosiva, pois o silano, após ocorrer a reação de hidrólise, apresenta grupos OH- na sua cadeia, tornando essa cobertura apta para ser absorvida nas superfícies de metal, gerando a proteção dessa superfície (36,89). Adicionalmente, o silano apresenta uma baixa toxicidade, possui uma excelente performance como um agente anti-corrosivo e tem natureza hidrofílica (36,90,91).

No intuito de criar uma cobertura de longa duração, que não seja agressiva ao meio ambiente, e que promova proteção contra corrosão, foram desenvolvidas coberturas organo-funcionais de silano e coberturas com princípio químico sol-gel (30,92). Coberturas organofuncionais têm sido estudadas extensamente na engenharia de superfície como agentes acopladores ou agentes de união, que

oferecem uma ligação entre a superfície do metal e um primer de polímero, por meio de ligações covalentes dos grupos de silicato hidrolisável com o metal, e uma interação subsequente do grupo organo-funcional R com o material polimérico do primer de cobertura (30). Os organo-silanos são produtos químicos considerados relativamente ecológicos e têm a capacidade de melhorar a adesão da interface metal/película, promovendo uma melhor proteção contra corrosão (30). A estrutura química e a funcionalidade orgânica dos silanos pode variar e ser otimizada para obter o efeito máximo na estabilidade hidrolítica da interface ou nas propriedades hidrofóbicas ou de adesão (30). Esses silanos organo-funcionais também foram utilizados para projetar revestimentos cerâmicos nano estruturados para a proteção contra a corrosão de ligas aeroespaciais de alumínio (93).

Para a confecção de revestimentos híbridos, diferentes materiais são misturados de forma pura, com intuito de obter uma solução final sinérgica, com as propriedades dos componentes (32). Para que ocorra o sinergismo dessa propriedades, a morfologia das fases do processo de confecção e a suas propriedades interfaciais precisam ser melhoradas, apresentando um alto grau de mistura (32). Por isso opta-se pela utilização da tecnologia de fabricação do híbrido pelo processo sol-gel, que possibilita uma boa dispersão da fase inorgânica (94). Os géis poliméricos são desenvolvidos por reações de polimerização ou de reticulação de polímeros funcionalizados (95).

O processo de sol-gel acontece através de reações de hidrólise e condensação dos produtos presentes no processo inicial. Com esse processo, é obtido uma rede de óxidos inorgânicos por reações de policondensação dos correspondentes alcóxidos (alumínio, zircônia, estanho, tungstênio, molibdênio e vanádio) (32). O alcóxido formado pelo silício é o mais empregado, porém sua reatividade é mais baixa que dos metálicos (32,96), sendo necessária a adição de catalisadores para acelerar a hidrólise (32,96). Estes catalisadores podem ser ácidos ou básicos, influenciando diretamente a estrutura do gel (32). A incorporação de componentes orgânicos em um sistema sol-gel induz a formação de filmes mais espessos, flexíveis e funcionais, com compatibilidade melhorada a diferentes coberturas orgânicas (97). Essas coberturas têm como característica também promover uma melhor adesão das tintas nas superfícies de metal (97).

As soluções híbridas possuem silanol na sua composição, que são oriundos do resultado da hidrólise dos silanos de partida, e que possuem grupos Si-OH, os quais

podem interagir com os grupos Ca-OH da superfície dos dentes, através de ligações de baixa energia do tipo ponte de hidrogênio. Após a cura da solução híbrida, o filme formaria ligações cruzadas, resultando em ligações do tipo siloxano-Si-O-Si e -Ca-O-Si- com as estruturas dentárias. Essa última é responsável por formar uma adesão química com o tecido.

Na odontologia, alguns estudos já utilizaram revestimentos híbridos poliméricos com diferentes finalidades (31,32,34). Li et al (34) analisou a aplicação de uma cobertura híbrida carregada com agente antimicrobiano nas bases de prótese, sendo que essa foi capaz de promover boa adesão, dureza e elevada atividade antibacteriana. Zuo et al (31), avaliou a estabilidade dimensional e de cor dessas coberturas nas bases de prótese, observando resultados favoráveis com esses revestimento.

Em um estudo recente, foi observado a interação de uma película híbrida experimental em uma dentina hipersensível simulada (32). Nesse estudo, a película híbrida, em uma concentração de 1:3 (híbrido / água), foi capaz de promover adesão ao substrato dentinário, além de resistir à desafios erosivos e abrasivos e reduzir a permeabilidade dentinária, a qual foi avaliada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pelo teste de condutância hidráulica.

2.4 ENCAPSULAMENTO

O desenvolvimento de nanocápsulas, com propriedades de liberação controlada, tamanho adequado, alta capacidade de carga e multifuncionalidade, abre caminho para que essas possam ser utilizadas em materiais com sistema de administração de medicamentos, agentes protetores, materiais carregados e coberturas ativas (98).

Estudos foram desenvolvidos no intuito de melhorar a ação das coberturas híbridas através da incorporação de nano cápsulas nesses revestimentos. Denominadas de coberturas inteligentes, pesquisadores desenvolveram coberturas capazes de promover uma auto reparação (*self-healing*). A ideia desse mecanismo “self-healing” também foi retirada da engenharia, a qual tem o objetivo de promover um reparo completo e passivo de pequenos danos mecânicos e químicos que podem ocorrer em revestimentos poliméricos, sem a necessidade da intervenção manual

(99). A maneira mais comumente utilizada para promover o “self-healing” envolve a incorporação de agentes capazes de promover essa auto reparação nos revestimentos na forma de micro ou nano cápsulas. Essas cápsulas então, liberariam o agente para a área danificada, preenchendo o defeito (100–105).

A incorporação dessas nano cápsulas nas coberturas poliméricas visa promover uma resposta rápida para possíveis danos causados pelo ambiente em que a cobertura está inserida, especialmente aqueles associados à corrosão, como a mudança de pH e força iônica, liberando os agentes inibidores da corrosão encapsulados a fim de retardar o processo de corrosão (35,106,107).

Algumas substâncias têm sido utilizadas como potenciais nano cápsulas, como argilas naturais (37), sílica mesoporosa (35) e microcápsulas de poliestireno (36). Devido à grande área de superfície interna e externa, essas cápsulas podem ser indicadas como portadoras de substâncias terapeuticamente ativas, permitindo a liberação controlada de um determinado fármaco (35).

A bentonita é uma argila com alto teor de montmorilonita, carrega positivamente, a qual pode se encontrar no formato de placas ou lâminas. Quando em placas, o empilhamento das mesmas é regido por forças polares fracas ou por forças de van der Waals. Entre essas placas existem lacunas denominadas de galerias ou camadas intermediárias, nas quais residem cátions trocáveis, como Na^+ , Ca^{2+} , Li^+ , fixos eletrostaticamente. A bentonita possui elevada capacidade de troca de cátions resultantes de substituições isomórficas (108).

A haloisita também é uma argila, um alumino-silicato natural, de forma tubular oca, com diâmetro nanométrico. Essa argila é carregada negativamente. Além, de permitir uma liberação controlada de drogas, esses nano tubos também são conhecidos por promoverem uma melhora nas propriedades mecânicas dos materiais (109). A haloisita possui um comprimento de aproximadamente 0,1 a 3,0 μm , enquanto o diâmetro externo e interno é entorno de 50-200 e 15-70 nm, respectivamente (110). As superfícies das haloisitas são carregadas de maneira oposta dentro de uma grande faixa de pH (entre 2 e 8), devido a seus diferentes compostos químicos (111).

A ação de liberação sob demanda aumenta a substantividade os íons, já que eles ficarão em contato com a superfície do dente por um tempo prolongado, sendo liberado em momentos que são desafiados, seja por dano mecânico ou um dano

químico, como ação de ácidos através da alteração de pH do ambiente, força iônica e alteração de temperatura (36).

Na indústria farmacêutica, esse tipo de encapsulamento já é utilizado em algumas drogas, com o objetivo de aumentar a sua biodisponibilidade e minimizar possíveis efeitos adversos (112). Na odontologia, nano tubos de haloisita, vêm sendo utilizados em sistemas adesivos, sendo uma estratégia de encapsulamento e liberação de drogas, como agentes de inibição de metaloproteinases e, também, agentes antimicrobianos (113,114).

Adicionalmente, apesar de esperar-se que a película híbrida se mantenha homogênea e sem defeitos por um período prolongado de tempo, sabe-se que riscos, poros e alguns defeitos podem eventualmente ocorrer, especialmente em meios constantemente desafiados mecânica e quimicamente, como o ambiente bucal. Assim, surgiu a ideia da inclusão de agentes com comprovada eficácia contra a erosão (23,24,59), principalmente os fluoretos e a combinação dos fluoretos com o estanho, nessas películas, pois estes atuariam nos eventuais defeitos, prevenindo uma possível desmineralização nesses locais.

Para que esses agentes atuem sob demanda, ou seja, quando houver um defeito na película, eles podem ser, preferencialmente, incorporados de maneira encapsulada, sendo que os íons F^- e Sn^{2+} seriam liberados para o meio em maior quantidade no momento do desafio erosivo. Uma outra vantagem de incluir nano cápsulas em filmes poliméricos seria um possível aumento da resistência mecânica desses filmes (115).

3 PROPOSIÇÃO

O primeiro objetivo desse estudo foi formular uma película híbrida estável. O segundo foi promover o encapsulamento de agentes fluoretados em argilas naturais e testar seu potencial de liberação desses agentes. O terceiro foi testar o efeito dessa película sobre desgaste erosivo em esmalte e em dentina. O quarto é utilizar essa película como veículo para a adição de fluoreto e estanho, encapsulados ou não, e testar o efeito dessa película modificada contra o desgaste erosivo.

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), por envolver o uso de 150 dentes bovinos extraídos de animais abatidos em frigorífico. Os dentes bovinos obtidos foram mantidos sob refrigeração a 4°C, em solução de timol a 0,1%. A carta de isenção se encontra no Anexo A.

4.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Foram utilizados incisivos bovinos, obtidos de um frigorífico, que foram limpos com curetas periodontais e depois, submetidos a profilaxia com uma mistura de pedra pomes e água, aplicada com auxílio de uma escova de Robinson, em baixa rotação. As coroas dos dentes foram separadas das raízes em uma máquina cortadora (Labcut, Extex). Fragmentos de esmalte e dentina (4 mm x 4 mm x 2 mm) foram seccionados das coroas e raízes dos incisivos, respectivamente, utilizando uma cortadora automática (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Os fragmentos foram então embutidos em resina acrílica (Varidur, Buehler). Os blocos resultantes foram planificados e polidos com discos abrasivos de Al₂O₃, sob refrigeração realizada com água abundante, de acordo com a seguinte sequência de granulação: 800, 1200, 2400 e 4000 (Buehler). O polimento final foi dado com um disco de feltro e suspensão de diamante (1 µm; Buehler). Ao final, os espécimes foram submetidos ao um banho de ultrassom em água deionizada por 3 min. Os espécimes foram então observados em lupa estereoscópica para detecção de trincas ou algum outro defeito de estrutura. 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

Uma fita adesiva do tipo UPVC foi inserida na superfície polida dos espécimes de maneira a deixar uma janela de 4 mm x 1 mm exposta aos testes subsequentes, sendo as áreas cobertas pela fita, serão utilizadas como área de referência.

4.3 PREPARO DA SOLUÇÃO HÍBRIDA

O preparo da solução híbrida foi dividido em duas etapas, onde na primeira etapa foi preparado uma solução com a mistura de água deionizada e álcool absoluto, essa solução teve o pH ajustado para 3.3. Em seguida foi preparado a segunda solução

com uma mistura de dos reagentes TEOS (tetraetilsilano) e GPTMS (glicidóxi-propiltrimetossilano), as soluções foram então incorporadas e aglutinadas, através do gotejamento da solução 2 sob a solução 1 com um auxílio de um funil de separação. Após verter toda solução 2 na solução 1, a solução resultante foi protegida e mantida sob agitação magnética por 72 h, em temperatura ambiente. Após esse período, foi medido o volume da solução e adicionado uma parte de água deionizada, em seguida foi preparado uma solução 3, com os reagentes Renex-95 e γ -APS (gamaaminopropilsilano). Essa solução foi incorporada na solução mãe com auxílio de um funil de separação. Em seguida foi adicionado mais duas partes de água, obtendo assim uma solução límpida e transparente.

4.4. FASE 1

Nessa primeira fase, foi avaliada a presença da película híbrida nos substratos dentários, e também, a capacidade de liberação de fluoreto e estanho das nano cápsulas.

4.4.1 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura da presença da película

A presença da película híbrida sobre a superfície dos substratos dentais foi verificada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando espécimes de esmalte e dentina, erodidos ($n = 3$, para cada substrato), os quais foram preparados como descrito no item 4.2 em Preparo dos espécimes. A erosão inicial foi realizada com solução de ácido cítrico à 1%, por 10 min.

A película híbrida foi aplicada conforme protocolo estabelecido em estudos prévios e descrito no item 4.5.5 Aplicação do tratamento.

Para análise em MEV, os espécimes preparados foram montados em stubs de alumínio e devidamente identificados. Eles, então, foram armazenados em uma dissecadora, por aproximadamente uma semana, com o objetivo de mantê-los secos e desidratados para serem metalizados (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein). Após a metalização, os espécimes foram observados em microscópio eletrônico de varredura (FEG, FEI Philips modelo inspect F50).

4.4.2 Encapsulamento e liberação de F

Para encapsular o fluoreto, foi formulada uma solução de fluoreto de sódio (NaF) com 15.000 ppm de F⁻. Doze grama de haloisita foi incorporada na solução de NaF. A solução resultante foi mantida sob vácuo por 30 min e, depois, centrifugada (3000 rpm, por 5 min). O sobrenadante foi removido e armazenado, e a massa resultante foi lavada com água destilada e centrifugada novamente (3000 rpm, 5 min). Esse procedimento foi repetido quatro vezes, sendo uma vez por dia, deixando em estufa à 45° C por 24 h. Após quatro vezes, o pó foi deixado para secar em temperatura ambiente por 48 h.

Para testar a liberação de F⁻ das nanocápsulas, 1g da haloisita contendo F⁻ foi adicionada em 100 ml de solução neutra (saliva artificial) ou solução de ácido cítrico a 0,3% (pH = 2,6) e mantida sob agitação constante. Alíquotas de 1 ml de cada solução foram coletadas após 1, 3, 5, 12, 24 e 48 h. A liberação de F⁻ foi analisada por meio de um eletrodo específico para flúor, adicionando a mesma quantidade de TISSAB II para cada alíquota, em duplicata. Foi realizada uma curva padrão com soluções de 500; 100; 10; 1; 0,1; 0,01 ppm de F e em seguida a quantidade de F (µg/ml) liberado das nano cápsulas de haloisita nas soluções foi medida

4.4.3 Encapsulamento e liberação de Sn

Para encapsular o estanho, foi utilizada uma solução de SnCl₂ contendo 10.000 ppm de Sn²⁺ e 10 g da argila bentonita. A solução resultante foi mantida sob agitação por 24 h e depois, centrifugada (3000 rpm por 5 min). O sobrenadante foi removido e a massa resultante foi lavada com água destilada e centrifugada novamente (3000 rpm, 5 min). Para testar a liberação de Sn²⁺ da argila, 1 g da bentonita contendo Sn²⁺ foi adicionada em 100 ml de solução neutra (saliva artificial) ou solução de ácido cítrico a 0,3% (pH = 2,6) e mantida sob agitação constante. Alíquotas de cada solução foram coletadas após 1, 3, 5, 12, 24 e 48 h. A liberação de Sn²⁺ (em mg/ml) foi analisada por Espectrometria de Emissão Ótica, em duplicata. Os dados foram processados no software ICP Expert II Software (Agilent Technologies Inc., Wilmington, EUA).

4.5 FASE 2

4.5.1 Delineamento experimental

Para essa segunda fase, o estudo seguiu um delineamento experimental com dois fatores experimentais:

1) Tipo de desafio:

- Erosivo
- Erosivo-abrasivo

2) Tipo de tratamento em 7 níveis:

- 1) Controle negativo (C) (sem tratamento)
- 2) Controle positivo (FP) (Flúor Protector - Ivoclar Vivadent, Zurique, Suíça)
- 3) Película híbrida (H)
- 4) Película híbrida + fluoreto de sódio (H+F)
- 5) Película híbrida + fluoreto de sódio encapsulado (H+FE)
- 6) Película híbrida + fluoreto de sódio + cloreto de estanho (H+F+Sn)
- 7) Película híbrida + fluoreto de sódio + cloreto de estanho encapsulado (H+F+SnE)

Os tratamentos experimentais foram testados em um modelo de erosão ou erosão-abrasão, usando espécimes de esmalte e dentina (n=10, para cada substrato, em cada desafio), obtidos de incisivos bovinos. A variável de resposta do estudo foi a perda de superfície (em μm), medida ao final da fase da ciclagem através de um perfilômetro ótico.

4.5.2 Preparo dos espécimes

O mesmo descrito no item 4.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES

4.5.3 Lesão inicial

No intuito de simular uma lesão inicial, onde os tratamentos seriam aplicados em uma condição erosiva já existente, foi realizado um desafio erosivo em todos os espécimes. Previamente a esse desafio, as superfícies polidas dos espécimes foram protegidas com uma fita adesiva de UPVC deixando uma janela de 4 mm x 1 mm exposta. O desafio erosivo inicial foi realizado com uma solução de ácido cítrico a 1% (pH natural de aproximadamente 2,6), por 10 min. Em seguida as fitas de UPVC foram removidas e os espécimes foram analisados em perfilômetro ótico para certificar que todos os espécimes possuíam lesões padronizadas, entre 2-5 μm , para os dois substratos (70,71,116).

4.5.4 Tratamentos

Os espécimes de esmalte e dentina foram distribuídos, de forma aleatória, em 7 grupos experimentais ($n = 10 / 70$ total), para cada substrato, em cada ciclagem, de acordo com os seguintes tratamentos:

- Controle negativo (C): aplicação de água destilada.
- Controle positivo (FP): aplicação de Flúor Protector (1.000 ppm F- como NaF - Ivoclar Vivadent Ltda. Zurique, Suíça). O produto foi utilizado seguindo as recomendações do fabricante.
- Película híbrida (H): TEOS/GPTMS/Y-APS (teos - tetraetilsilano; gptmsglicidóxiopropiltrimetosilano; y-aps-gamaaminopropilsilano).
- Película híbrida aditivada com fluoreto de sódio (H+F) (4.530 ppm de F).
- Película híbrida aditivada com fluoreto de sódio (encapsulado) (H+FE).
- Película híbrida aditivada com fluoreto de sódio + cloreto de estanho (H+F+Sn) (4.530 ppm de F + 6.260 ppm de Sn).
- Película híbrida aditivada com fluoreto de sódio + cloreto de estanho (encapsulado) (H+F+SnE)

4.5.5 Aplicação do tratamento

Os tratamentos foram aplicados conforme resultados obtidos em estudos prévios, foi realizado a limpeza da superfície com mistura de pedra pomes e água, seguida de lavagem e secagem. Depois foi feita a alcalinização da superfície com NaOH a 0,05M por 10 min, através da aplicação com auxílio de uma bolinha de algodão, seguida de lavagem com água e secagem. A aplicação da película híbrida foi realizada com auxílio de um microbrush, sendo duas camadas finas e homogêneas, aguarda 4 min, em seguida é realizada aplicação de calor com fotopolimerizador Valo (1000 mW/cm² de irradiância) (Ultradent Products, Inc. – South Jordan, UT, EUA) por 60 s.

O Fluor Protector foi aplicado seguindo as recomendações do fabricante. Brevemente, foi realizada uma limpeza da superfície com pedra pomes e água e, então, aplicada uma fina camada com auxílio de um microbrush fornecido pelo fabricante. Após essa aplicação, aguardou-se 60 s para completar a cura do material.

4.5.6 Ciclagem erosiva e erosiva-abrasiva

Cento e quarenta espécimes de esmalte e dentina foram aleatoriamente distribuídos nos 7 grupos experimentais (n=10 para cada substrato, em ambas as ciclagens). Para a ciclagem, as superfícies polidas dos espécimes foram protegidas com uma fita adesiva de UPVC deixando uma janela de 4mm x 1 mm exposta. Foi utilizado o mesmo protocolo descrito por Pereira et al., 2017 (116), onde os espécimes foram imersos, por 5 min, em 4 ml de uma solução de ácido cítrico a 0,3% (pH natural de aproximadamente 2,6), seguido por 60 min de exposição à saliva artificial (1,45 mM Ca; 5,4 mM PO₄, 0,1 M Tris buffer, 2,2 g/L mucina gástrica suína, pH: 7,0). Esse procedimento foi repetido 4 vezes ao dia, por 5 dias, mantendo em saliva no período noturno, entre cada dia de ciclagem. Todos os procedimentos foram conduzidos em temperatura ambiente. A solução erosiva foi renovada a cada exposição e a saliva artificial foi trocada uma vez ao dia, no início da ciclagem. Para a ciclagem de erosão-abrasão, o mesmo protocolo foi seguido, porém, os espécimes foram escovados após o primeiro e último desafios erosivos com uma suspensão de creme dental (Crest Cavity Protection – Procter & Gamble, Cincinnati, OH, EUA) e água destilada, na proporção de 1:3, em máquina de escovação automática, com escovas macias (Oral-

B, Procter & Gamble, Cincinnati, OH, EUA), por 15 s (45 ciclos), com 2 min de exposição total à suspensão. Os espécimes que pertenciam somente ao grupo erosão, foram somente expostos em suspensão pelo mesmo tempo dos espécimes abrasionados. Após a escovação, os espécimes foram lavados com jato de ar/água. A tabela 4.1 mostra a sequência diária da ciclagem.

Tabela 4.1 - Sequência diária da ciclagem erosiva-abrasiva

Passo	Sequência	Procedimentos
1	Desafio erosivo Exposição à saliva artificial Escovação Exposição à saliva artificial	5 min (ac. cítrico a 0,3%) 30 min (saliva artificial) 2 min (suspensão); 15 s escovação 30 min (saliva artificial)
2	Desafio erosivo Exposição à saliva artificial	5 min (ac. cítrico a 0,3%) 60 min (saliva artificial)
3	Desafio erosivo Exposição à saliva artificial	5 min (ac. cítrico a 0,3%) 60 min (saliva artificial)
4	Desafio erosivo Exposição à saliva artificial Escovação Exposição à saliva artificial	5 min (ac. cítrico a 0,3%) 30 min (saliva artificial) 2 min (suspensão); 15 s escovação Overnight (saliva artificial)

4.3.7 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 4.3. 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 serão 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).

Figura 4.3 - Perfilômetro ótico e uma imagem representativa da superfície dos espécimes escaneada com os parâmetros descritos

4.3.8 Análise de dados

A normalidade e homogeneidade dos dados numéricos obtidos foram checadas com os testes de Shapiro-Wilks e Brown-Forsythe, respectivamente. Para os dados da fase 1, a comparação entre os grupos foi realizada com o teste *t* de student, considerando um nível de significância de 5%. Com base nos resultados da fase 2, a comparação entre os grupos foi realizada com os testes não paramétricos Kruskal-Wallis, Dunn e Mann Whitney, considerando um nível de significância de 5%. O software SigmaPlot 13 (Systat Software Inc., Chicago Illinois, USA) foi utilizado para os cálculos.

5 RESULTADOS

5.1 FASE 1

Pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura, pode ser percebida a presença da película híbrida nos espécimes, como uma superfície lisa e bem uniforme. O objetivo de testar em um substrato erodido foi o de simular um indivíduo que já possui desgaste erosivo e recebeu como tratamento a aplicação da película híbrida na região afetada.

Figura 5.1 - Micrografia representativa da interface esmalte e da película híbrida. Com aumento de 10000x

Figura 5.2 - Micrografia representativa da interface dentina e da película híbrida. Com aumento de 10000x

O objetivo do teste de liberação do F- foi, além de comprovar o encapsulamento do F- da haloisita, avaliar se haveria maior liberação desse cátion em meio ácido quando comparado à um meio neutro. Em todos tempos experimentais, os valores de F- liberados foram maiores em solução neutra do que em ácido cítrico ($p < 0.003$). As partículas de haloisita foram capazes de armazenar o F-, permitindo um aumento de sua liberação em meio ácido. Na tabela 5.1 e na figura 5.3, estão apresentadas as médias (desvios padrão) dos valores de liberação de F-, em µg/ml.

Tabela 5.1 - Médias (desvios padrão) de F- (em µg/ml) liberados pela haloisita em ambos meios analisados

	1h	3h	5h	12h	24h	48h
Saliva	4,61 (0,05)	4,72 (0,06)	4,77 (0,07)	6,08 (0,01)	5,92 (0,01)	6,18 (0,02)
Ácido cítrico	6,42 (0,13)	6,42 (0,12)	6,83 (0,19)	6,90 (0,08)	7,17 (0,27)	7,31 (0,24)

Figura 5.3 - Médias (desvios padrão) de F⁻ (em µg/ml) liberados pela haloisita em ambos meios analisados

O objetivo do teste, além de verificar o encapsulamento do Sn²⁺ pela bentonita, foi de avaliar se haveria maior liberação desse cátion em meio ácido, quando comparado à um meio neutro. Após coleta e análise dos dados de liberação do Sn, pode-se observar que em todos tempos experimentais, os valores de Sn²⁺ liberados foram maiores em solução neutra (saliva) do que em ácido cítrico ($p < 0.001$). As partículas de bentonita foram capazes de armazenar o Sn²⁺, permitindo um aumento de sua liberação em meio ácido quando comparado com um meio neutro. Na tabela 5.2 e na figura 5.4, temos as médias (desvios padrão) dos valores de liberação de Sn²⁺, em mg/ml.

Tabela 5.2 - Médias (desvios padrão) de Sn²⁺ (em mg/ml) liberados pela bentonita em ambos meios analisados

	1h	3h	5h	12h	24h	48h
Saliva	5.65 (0.32)	5.12 (0.08)	5.16 (0.17)	4.40 (0.23)	3.36 (0.10)	2.04 (0.07)
Ácido cítrico	14.19 (0.17)	31.66 (0.24)	22.30 (0.39)	34.53 (0.09)	37.15 (0.42)	30.75 (0.10)

Figura 5.4 - Médias (desvios padrão) de Sn^{2+} (em mg/ml) liberados pela bentonita em ambos meios analisados

5.2 FASE 2

Após a ciclagem, os dados de perda de superfície foram analisados. Na tabela 5.3, estão apresentadas as medianas (IQ) da perda superficial de esmalte. No desafio erosivo, o FP (Fluor Protector) e o H (Híbrido) foram os grupos que apresentaram a menor perda de superfície, sem diferença significativa entre eles ($p=1$). O FP também não diferiu significativamente dos grupos H+F+Sn e H+FE ($p=0,061$ e $p=0,051$, respectivamente). Os demais grupos não foram diferentes entre si e nem dos grupos H+F+Sn e H+FE ($p>0,05$). No desafio erosivo abrasivo, o grupo FP apresentou significativamente menor PS do que os outros grupos ($p<0,05$), com exceção do grupo controle ($p=0,055$). Os outros grupos não diferiram significativamente entre si, nem em relação ao controle ($p>0,05$).

Quando analisado a diferença entre os desafios, para cada grupo, o FP foi o único que não apresentou diferença significativa entre os desafios ($p=0,121$). Os outros grupos apresentaram significativamente maior perda superficial no desafio erosivo e abrasivo em comparação com o desafio erosivo somente ($p < 0,001$).

Tabela 5.3 - Medianas e intervalos interquartis da PS (em μm) de esmalte após ciclagem para os grupos experimentais, em cada desafio ($n = 10$, para cada desafio)

Grupos	Erosão - Abrasão			Erosão		
	Mediana	IQ		Mediana	IQ	
FP	-2,75	(-5,27/4,30)	Aa	0,81	(-0,96/2,95)	ABa
H	-9,02	(-9,96/-7,90)	Bb	0,87	(-0,46/3,27)	Aa
H+F	-10,21	(-10,64/-9,49)	Bb	-2,66	(-4,52/-1,55)	Ca
H+FE	-9,64	(-10,54/-8,47)	Bb	-3,13	(-4,52/-1,87)	BCa
H+F+SnE	-10,03	(-11,44/-8,61)	Bb	-3,92	(-4,45/-2,63)	Ca
C	-8,81	(-9,95/-8,53)	ABb	-3,45	(-3,71/-2,96)	Ca
H+F+Sn	-9,98	(-10,62/-8,32)	Bb	-2,84	(-3,68/-1,52)	BCa

*Em colunas, letras maiúsculas diferentes demonstram diferenças significativas entre os grupos, para cada desafio ($p < 0,05$). Em linha, letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre os desafios, para cada grupo ($p < 0,05$).

Na tabela 5.4, estão apresentadas as medianas (IQ) da perda superficial de dentina. Para o desafio erosivo, os grupos H, H+F+SnE, FP e H+F não se diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), mas apresentaram significativamente menor perda superficial do que o controle ($p < 0,05$). Já os grupos H+FE e H+F+Sn não diferiram significativamente do grupo controle ($p = 0,107$ e $p = 1$, respectivamente). No desafio erosivo-abrasivo, nenhum grupo apresentou perda superficial significativamente diferente do controle ($p > 0,05$), mas os grupos H e FP apresentaram significativamente menor perda do que H+F+Sn ($p = 0,009$ e $p = 0,021$, respectivamente).

Quando observado o comportamento dos tratamentos entre os diferentes desafios, somente os grupos FP e o controle não apresentaram diferença significativa entre os desafios ($p = 0,162$ e $p = 0,970$), sendo que para os outros grupos, o desafio erosivo-abrasivo apresentou significativamente mais perda do que o desafio erosivo ($p < 0,01$).

Tabela 5.4 - Mediana e intervalo interquartil da PS (em μm) de dentina após ciclagem.

Grupos	Erosão - Abrasão			Erosão		
	Mediana	IQ		Mediana	IQ	
FP	-2,95	(-5,075/-0,62)	Aa	-1,37	(-3,009/0,675)	ABa
H	-4,05	(-4,263/-3,765)	Ab	-0,05	(-2,013/1,49)	Aa
H+F	-4,10	(-5,243/-2,752)	ABb	-2,36	(-3,281/-1,654)	ABa
H+FE	-4,35	(-5,481/-4,066)	ABb	-3,23	(-4,146/-1,489)	ABCa
H+F+SnE	-5,17	(-5,728/-4,218)	ABb	-1,19	(-4,093/-0,23)	Aa
C	-5,14	(-5,876/-4,563)	ABa	-5,41	(-5,7/-4,382)	Ca
H+F+Sn	-6,40	(-6,861/-5,608)	Bb	-4,13	(-4,787/-3,474)	BCa

*Letras maiúsculas diferentes demonstram diferenças estatisticamente significante em coluna. Letras minúsculas mostram diferença estatisticamente significante em linha.

6 DISCUSSÃO

A primeira hipótese desse estudo, no qual a película híbrida formulada seria capaz de formar uma barreira protetora contra erosão e erosão-abrasão em esmalte e dentina foi parcialmente aceita, pois a película híbrida protegeu esses substratos somente contra o desafio erosivo, não resistindo ao desafio erosivo-abrasivo. Assim como no estudo de Oliveira et al (32), foi possível observar a presença da película híbrida experimental sobre o substrato dentário, por meio das imagens de microscopia eletrônica de varredura, onde essa película se apresentou como um filme uniforme e homogêneo.

No esmalte, para o modelo de erosão, o grupo híbrido foi capaz de promover proteção significativa, se igualando ao controle positivo (Fluor Protector). Esse resultado sugere que a película híbrida experimental foi capaz de atuar como uma barreira mecânica nesse substrato, impedido o contato direto dos ácidos com a superfície do esmalte, pelo menos durante algum período. Não foi possível afirmar quanto tempo essa película se manteve presente no substrato dentário, porém, o fato de os espécimes apresentarem uma perda superficial mínima ao final do experimento nos indica que a película foi removida total ou parcialmente durante a ciclagem, já que era possível visualizar, a olho nu, a presença de parte da película em alguns espécimes.

Ainda no modelo de erosão, para o substrato dentinário, o híbrido também se mostrou eficiente. Acredita-se que essa ação protetora na dentina seja pelo fato desse substrato possuir uma grande capacidade de retenção dessa película, uma vez que ele possui estrutura mais irregular, porosa e com túbulos dentinários. Isso possibilitou um maior escoamento da película para o interior dessas irregularidades e dos túbulos, o que, possivelmente possibilitou um vedamento parcial desse substrato (32). Esse efeito da película híbrida na oclusão tubular foi demonstrado em um estudo anterior (32), onde, após desafios erosivos e abrasivos, a película híbrida se manteve no substrato dentinário, sendo capaz de reduzir a permeabilidade da dentina. Foi apontado que a vantagem de usar a película híbrida como um material dessensibilizante se dá por esse ser um material fino e incolor, com menor possibilidade de sobrecontornos quando aplicado na região cervical, nos casos de

exposição radicular gerada por uma recessão gengival, ou quando houver pequenas perdas de estrutura dentária nessa região, gerando a hipersensibilidade dentinária.

Apesar dos resultados do presente estudo demonstrarem o potencial dessa película híbrida como um agente preventivo da erosão, a retenção dessa película ao substrato dentário precisa ser melhorada. No presente estudo, foi realizada uma lesão inicial na superfície dentária, a fim de aumentar as irregularidades dessa superfície, porém, supõe-se que essa lesão inicial possa ter sido agressiva demais, fazendo com que essa camada mais superficial erodida se tornasse mais frágil e de fácil remoção, atrapalhando, assim, a retenção da película no substrato. Uma alternativa de melhoria seria por meio da promoção de uma área de microrretenção mais controlada no substrato dentário, gerando, assim, uma melhor adesão.

O fato da película híbrida não ter resistido aos desafios erosivos nos sugere que também há a necessidade de uma melhora nas suas propriedades mecânicas. Uma alternativa interessante com esse propósito seria a incorporação de cargas ou fotoiniciadores na sua composição. Sabe-se que a incorporação de partículas de carga em materiais resinosos pode promover um aumento na resistência mecânica desses materiais (117). A utilização de fotoiniciadores também pode ser uma boa alternativa para melhorar a resistência desse material, já que estudos mostraram que fotoiniciadores são capazes de promover um maior grau de conversão do material (118), aumentando, portanto, a resistência desse material. Porém, sabe-se que a incorporação desses agentes no material pode alterar algumas propriedades da película, como a espessura do filme, a sua coloração e a viscosidade. Por isso, estudos adicionais precisam ser realizados para avaliar essas alternativas de melhorias da película.

Na engenharia, já foi comprovada a eficácia dessa película híbrida (35–37) na proteção da superfície de metais submetidas a desafios em um ambiente corrosivo. Esses achados corroboram com os resultados do presente estudo, já que o grupo com a película híbrida demonstrou resistência em um ambiente erosivo e foi capaz de promover ação protetora.

O Fluor Protector, o material utilizado como controle positivo nesse estudo, possui poliuretano na sua composição, que é responsável por permitir um contato íntimo com a superfície dentária, promovendo uma adesão mais eficiente em comparação com vernizes à base de resina (119–121). Em estudos anteriores (66,119,121), foi testada a ação de vernizes em esmalte e dentina e esses substratos

foram avaliados após serem submetido à desafios erosivos e abrasivos. Em dois estudos (119,121), foi possível observar a presença do Fluor Protector na superfície dentinária, por meio de MEV, após o desafio erosivo, porém, após o desafio erosivo-abrasivo, Mok et al (121) observaram que o Fluor Protector foi removido parcialmente da superfície. Para o substrato de esmalte, o Fluor Protector não foi o verniz com maior efetividade na ação contra o desgaste erosivo (66). Concordando com alguns desses achados, no presente estudo, quando submetidos ao desafio erosivo-abrasivo, nenhum grupo experimental foi capaz de proteger o substrato de esmalte e dentina, mostrando que mesmo o grupo Fluor Protector não foi capaz de resistir à ação mecânica da escovação.

A aditivação da película híbrida com agentes anti-erosivos não foi eficaz na ação de proteção do substrato dentário, rejeitando a segunda hipótese desse estudo, na qual a película híbrida carregada com agentes anti-erosivos seria capaz de promover proteção superior contra o desgaste erosivo em relação a película não modificada. Apesar dos testes preliminares terem confirmado a capacidade de liberação desses agentes do interior das cápsulas, especialmente em ambientes ácidos, nesse estudo, essa liberação pode não ter sido suficiente para promover uma ação protetora significativa. Sugere-se que, o carregamento com as cápsulas possa ter influenciado na viscosidade do híbrido, atrapalhando a adesão da película no substrato, especialmente no esmalte. Isso influenciaria tanto a sua ação mecânica de proteção, já que parte dela provavelmente foi destacada no início da ciclagem, como também, a sua ação de proteção química, pois não houve liberação dos agentes das cápsulas em quantidades suficientes que pudessem promover a proteção da superfície.

A ação química dos agentes anti-erosivos não mostrou um efeito evidente para os dois modelos de desafio testados. Acredita-se que a ausência do efeito protetor desses agentes possa ser explicada pelas concentrações presentes no material. Deve ser ponderado que, mesmo o controle positivo não foi capaz de resistir a ação mecânica da escovação. Concordando com esses achados, em um estudo anterior, foi mostrado que o Fluor Protector exerceu proteção inferior em relação à outros vernizes fluoretados que possuíam maior concentração de F- na sua composição, quando submetido ao desafio erosivo-abrasivo (66), mostrando, assim, a importância da concentração dos fluoretos nos materiais utilizados na prevenção do desgaste erosivo.

As cápsulas de argilas carregadas já foram utilizadas na odontologia em diferentes estudos, e tiveram sua eficácia comprovada (109,114). Os resultados do presente estudo mostraram que as cápsulas de haloisita e bentonita têm a capacidade de promover a liberação dos agentes que estão inseridos no seu interior, principalmente quando expostas à ambientes ácidos, corroborando com os achados de outros estudos, onde houve uma maior liberação dos agentes ambientes com pH mais baixo (36,37).

Porém, a utilização dessa película híbrida experimental parece não ser o veículo ideal para essas cápsulas, já que nos grupos experimentais que tiveram a película híbrida carregada com as cápsulas não foram capazes de aumentar o potencial protetor da película, uma vez que essa ficou mais viscosa, o que permitiu o seu maior destacamento da superfície. Talvez a inclusão das nano cápsulas em veículos que permitam a sua maior liberação seria uma alternativa interessante a ser testada no futuro.

Essa tecnologia de nanocápsulas também está sendo bastante explorada em diferentes áreas de conhecimento (34,36,99). O seu uso é importante e possui um potencial favorável, pois ela pode promover a entrega de determinadas substâncias em locais específicos, além de poder aumentar a substantividade dos agentes encapsulados, que podem ser liberados para o meio conforme a demanda.

Apesar das limitações de um estudo *in vitro*, podemos observar que existe um potencial protetor da película híbrida formulada em um ambiente erosivo. Entretanto, mais estudos e modificações nessa película precisam ser realizados com intuito de aprimorar a sua retenção no substrato dentário, principalmente ao esmalte, fazendo assim que a utilização das nanocápsulas possa ocorrer de forma mais efetiva e promissora.

7 CONCLUSÃO

Com este trabalho *in vitro*, pode-se concluir que:

- Foi possível promover o encapsulamento dos agentes fluoretados em cápsulas de argilas;
- As cápsulas foram capazes de liberar os agentes em diferentes meios (ácido e neutro);
- Foi possível formular uma película híbrida experimental, sendo que essa exerceu um papel protetor na progressão da erosão nos substratos dentários;
- Entretanto, nenhum material foi capaz de proteger o esmalte e a dentina contra a erosão-abrasão.
- O carregamento da película híbrida com agentes anti-erosivos não promoveu melhora no seu potencial protetor, para ambos substratos.

REFERÊNCIAS¹

1. Lussi A, Carvalho TS. Erosive Tooth Wear: A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increasing Knowledge. In: Monographs in oral science. 2014. p. 1–15.
2. Tschammler C, Müller-Pflanz C, Attin T, Müller J, Wiegand A. Prevalence and risk factors of erosive tooth wear in 3–6 year old German kindergarten children—A comparison between 2004/05 and 2014/15. *J Dent*. 2016 Sep;52:45–9.
3. Nahás Pires Corrêa MS, Nahás Pires Corrêa F, Nahás Pires Corrêa JP, Murakami C MF. Prevalence and associated factors of dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. *Int J Paediatr Dent*. 2011;21(6):451–8.
4. Mantonanaki M, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Papaioannou W. Dental erosion prevalence and associated risk indicators among preschool children in Athens, Greece. *Clin Oral Investig*. 2013;17(2):585–93.
5. Mulic A, Fredriksen Ø, Jacobsen ID, Tveit AB, Espelid I, Crossner CG. Dental erosion: Prevalence and severity among 16-year-old adolescents in Troms, Norway. *Eur J Paediatr Dent*. 2016 Sep;17(3):197–201.
6. McGuire J, Szabo A, Jackson S, Bradley TG, Okunseri C. Erosive tooth wear among children in the United States: Relationship to race/ethnicity and obesity. *Int J Paediatr Dent*. 2009;19(2):91–8.
7. Salas MMS, 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 Jan;43(1):42–50.
8. Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, Incidence and Distribution of Erosion. In: Monographs in oral science. 2014. p. 55–73.
9. ZIPKIN I, McCLURE FJ. Salivary citrate and dental erosion; procedure for determining citric acid in saliva; dental erosion and citric acid in saliva. *J Dent Res*. 1949 Dec 1;28(6):613–26.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

10. Larsen MJ. Chemical Events during Tooth Dissolution. *J Dent Res.* 1990 Feb;69(2_suppl):575–80.
11. Moazzez R, Bartlett D. Intrinsic Causes of Erosion. In: *Monographs in oral science.* 2014. p. 180–96.
12. Schlueter N, Amaechi BT, Bartlett D, Buzalaf MAR, Carvalho TS, Ganss C, et al. Terminology of Erosive Tooth Wear: Consensus Report of a Workshop Organized by the ORCA and the Cariology Research Group of the IADR. *Caries Res.* 2019 Oct 14;1–5.
13. Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MAR. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(2):75–86.
14. Zero DT, Lussi A. Erosion--chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J.* 2005;55(4 Suppl 1):285–90.
15. 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.
16. 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 Feb 9;41(2):141–5.
17. 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 Aug;40(8):654–60.
18. 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.
19. Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF₂ precipitation and microstructure. *Caries Res.* 2001;35 Suppl 1:45–51.
20. Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MAR, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:158–70.

21. Huysmans M-C, Young A, Ganss C. The Role of Fluoride in Erosion Therapy. In: Monographs in oral science. 2014. p. 230–43.
22. Babcock FD, King JC, Jordan TH. The Reaction of Stannous Fluoride and Hydroxyapatite. *J Dent Res*. 1978 Sep 8;57(9–10):933–8.
23. Ganss C, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion. *J Dent Res*. 2010 Nov 1;89(11):1214–8.
24. Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Zero DT, Aoki I V, Hara AT. Anti-erosive properties of solutions containing fluoride and different film-forming agents. *J Dent*. 2015 Apr;43(4):458–65.
25. 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 Aug 12;118(4):376–84.
26. 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 Aug;117(4):427–34.
27. 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 Nov 27;42(1):2–7.
28. Schlueter N, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Ganss C. Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2010 May 25;68(3):180–4.
29. 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 Dec;37(12):944–8.
30. Khramov A., Balbyshev V., Voevodin N., Donley M. Nanostructured sol–gel derived conversion coatings based on epoxy- and amino-silanes. *Prog Org Coatings*. 2003;47(3):207–13.

31. Zuo W, Feng D, Song A, Gong H, Zhu S. Effects of organic-inorganic hybrid coating on the color stability of denture base resins. *J Prosthet Dent*. 2016 Jan;115(1):103–8.
32. Oliveira T. Avaliação da estabilidade da aplicação de um híbrido experimental em diferentes concentrações sobre a dentina sensível-in vitro. *teses.usp.br*. School of Dentistry - University of São Paulo; 2016.
33. Ni Y, Zheng S. Epoxy resin containing polyphenylsilsesquioxane: Preparation, morphology, and thermomechanical properties. *J Polym Sci Part A Polym Chem*. 2006 Feb 1;44(3):1093–105.
34. Li X, Shi Z, Cui Z, Zhu S. Silver Chloride Loaded Hollow Mesoporous Silica Particles and Their Application in the Antibacterial Coatings on Denture Base. *Chem Res Chinese Univ*. 2018 Dec 25;34(3):495–9.
35. Falcón JM, Otubo LM, Aoki I V. Highly ordered mesoporous silica loaded with dodecylamine for smart anticorrosion coatings. *Surf Coatings Technol*. 2016;303(Part B):319–29.
36. Cotting F, Aoki IV. Smart protection provided by epoxy clear coating doped with polystyrene microcapsules containing silanol and Ce (III) ions as corrosion inhibitors. *Surf Coatings Technol*. 2016;303(Part B):310–8.
37. Falcón J, Sawczen T, Aoki I. Dodecylamine-loaded halloysite nanocontainers for active anticorrosion coatings. *Front Mater*. 2015;
38. Schlueter N, Luka B. Erosive tooth wear – a review on global prevalence and on its prevalence in risk groups. *Br Dent J*. 2018 Mar 2;224(5):364–70.
39. Schlueter N, Tveit AB. Prevalence of Erosive Tooth Wear in Risk Groups. In: *Monographs in oral science*. 2014. p. 74–98.
40. Addy M, Hunter ML. Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *Int Dent J*. 2003;53 Suppl 3:177–86.
41. 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.

42. Wiegand A, Schlueter N. The role of oral hygiene: does toothbrushing harm? *Monogr Oral Sci.* 2014;25:215–9.
43. Machado AC, Bezerra SJC, João-Souza SH, Caetano TM, Russo LC, Carvalho TS, et al. Using fluoride mouthrinses before or after toothbrushing: effect on erosive tooth wear. *Arch Oral Biol.* 2019 Dec;108:104520.
44. Wiegand A, Wegehaupt F, Werner C, Attin T. Susceptibility of acid-softened enamel to mechanical wear--ultrasonication versus toothbrushing abrasion. *Caries Res.* 2007;41(1):56–60.
45. Voronets J, Lussi A. Thickness of softened human enamel removed by toothbrush abrasion: an in vitro study. *Clin Oral Investig.* 2010 Jun 5;14(3):251–6.
46. 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 Jun;117(3):255–60.
47. Schlueter N, Glatzki J, Klimek J, Ganss C. Erosive-abrasive tissue loss in dentine under simulated bulimic conditions. *Arch Oral Biol.* 2012 Sep;57(9):1176–82.
48. Lussi A, Hellwig E. Risk Assessment and Causal Preventive Measures. In: *Monographs in oral science.* 2014. p. 220–9.
49. 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 Oct;27(10):875–80.
50. Eisenburger M, Addy M. Evaluation of pH and erosion time on demineralisation. *Clin Oral Investig.* 2001 Jun;5(2):108–11.
51. 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 Oct;111(5):428–33.
52. Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki I V., Sobral MAP. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent.* 2011 Dec;39(12):841–8.

53. Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki I V, Sobral MAP. Development of an orange juice surrogate for the study of dental erosion. *Braz Dent J*. 2011;22(6):473–8.
54. Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res*. 2004 Oct 29;38(6):561–6.
55. Wiegand A, Magalhães 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.
56. SAXEGAARD E, RÖLLA G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Eur J Oral Sci*. 1988 Dec;96(6):523–35.
57. Koeser J, Carvalho TS, Pielles U, Lussi A. Preparation and optimization of calcium fluoride particles for dental applications. *J Mater Sci Mater Med*. 2014 Jul 30;25(7):1671–7.
58. Lussi A, Carvalho TS. The Future of Fluorides and Other Protective Agents in Erosion Prevention. *Caries Res*. 2015 Apr 13;49(1):18–29.
59. Scaramucci T, João-Souza SH, Lippert F, Eckert GJ, Aoki I V, Hara AT. Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents. *Caries Res*. 2016 Mar 2;50(2):104–10.
60. Büyükyilmaz T, Tangugsorn V, Øgaard B, Arends J, Ruben J, Rølla G. The effect of titanium tetrafluoride (TiF₄) application around orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 1994 Mar;105(3):293–6.
61. 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.
62. Buzalaf MAR, Magalhães AC, Wiegand A. Alternatives to Fluoride in the Prevention and Treatment of Dental Erosion. In: *Monographs in oral science*. 2014. p. 244–52.
63. Vieira A, Jager DHJ, Ruben JL, Huysmans MCDNJM. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. *Caries Res*. 2007;41(1):61–7.

64. Magalhães AC, Comar LP, Rios D, Delbem ACB, Buzalaf MAR. Effect of a 4% titanium tetrafluoride (TiF₄) varnish on demineralisation and remineralisation of bovine enamel in vitro. *J Dent*. 2008 Feb;36(2):158–62.
65. Kato MT, de Moraes Italiani F, de Araújo JJ, Garcia MD, de Carvalho Sales-Peres SH, Buzalaf MAR. Preventive effect of an iron varnish on bovine enamel erosion in vitro. *J Dent*. 2009 Mar;37(3):233–6.
66. Sar Sancakli H, Austin R, Al-Saqabi F, Moazzez R, Bartlett D. The influence of varnish and high fluoride on erosion and abrasion in a laboratory investigation. *Aust Dent J*. 2015 Mar 1;60(1):38–42.
67. Sundaram G, Wilson R, Watson TF, Bartlett D. Clinical measurement of palatal tooth wear following coating by a resin sealing system. *Oper Dent*. 2007 Nov;32(6):539–43.
68. Bartlett D, Sundaram G, Moazzez R. Trial of protective effect of fissure sealants, in vivo, on the palatal surfaces of anterior teeth, in patients suffering from erosion. *J Dent*. 2011 Jan;39(1):26–9.
69. Attin T, Deifuss H, Hellwig E. Influence of acidified fluoride gel on abrasion resistance of eroded enamel. *Caries Res*. 1999;33(2):135–9.
70. Bezerra SJC, Trevisan LR, Viana IEL, Lopes RM, Pereira DL, Aranha ACC, et al. Er,Cr:YSGG laser associated with acidulated phosphate fluoride gel (1.23% F) for prevention and control of dentin erosion progression. *Lasers Med Sci*. 2018;
71. da Silva VRM, Viana ÍEL, Lopes RM, Zezell DM, Scaramucci T, Aranha ACC. Effect of Er,Cr:YSGG laser associated with fluoride on the control of enamel erosion progression. *Arch Oral Biol*. 2019 Mar;99:156–60.
72. 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.
73. Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T. Impact of Different Toothpastes on the Prevention of Erosion. *Caries Res*. 2007 Dec 17;42(1):62–7.

74. Ganss C, Marten J, Hara AT, Schlueter N. Toothpastes and enamel erosion/abrasion – Impact of active ingredients and the particulate fraction. *J Dent*. 2016 Nov;54:62–7.
75. Lussi A, Buzalaf MAR, Duangthip D, Anttonen V, Ganss C, João-Souza SH, et al. The use of fluoride for the prevention of dental erosion and erosive tooth wear in children and adolescents. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019 Feb 14;
76. Attin T, Knöfel S, Buchalla W, Tütüncü R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res*. 2001;35(3):216–22.
77. 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.
78. Lussi A, Lussi J, Carvalho TS, Cviki B. Toothbrushing after an erosive attack: will waiting avoid tooth wear? *Eur J Oral Sci*. 2014 Oct;122(5):353–9.
79. Lopes RM, da Silva JSA, João-Souza SH, Maximiano V, Machado AC, Scaramucci T, et al. Enamel surface loss after erosive and abrasive cycling with different periods of immersion in human saliva. *Arch Oral Biol*. 2019 Sep 5;109:104549.
80. Wiegand A, Köwing L, Attin T. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. *Arch Oral Biol*. 2007 Nov;52(11):1043–7.
81. Sakae LO, Bezerra SJC, João-Souza SH, Borges AB, Aoki I V., Aranha ACC, et al. An in vitro study on the influence of viscosity and frequency of application of fluoride/tin solutions on the progression of erosion of bovine enamel. *Arch Oral Biol*. 2018;89(August 2017):26–30.
82. Bezerra SJC, SJC, João-Souza SH, SH, Aoki IVIV, Borges ABAB, Hara ATAT, Scaramucci T. Anti-Erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers. *Caries Research* Oct 25, 2018 p. 305–13.
83. João-Souza SH, Bezerra SJC, de Freitas PM, de Lima NB, Aranha ACC, Hara AT, et al. In situ evaluation of fluoride-, stannous- and polyphosphate-containing solutions against enamel erosion. *J Dent*. 2017 Aug;63(May):30–5.

84. Lennon AM, Pfeffer M, Buchalla W, Becker K, Lennon S, Attin T. Effect of a casein/calcium phosphate-containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 2006;40(2):154–7.
85. 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 Mar;52(1):41–6.
86. Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem ACB, Buzalaf MAR. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on the erosion of permanent and deciduous human enamel: an in situ/ex vivo study. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(1):56–60.
87. White AJ, Gracia LH, Barbour ME. Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. *Caries Res.* 2011;45(1):13–20.
88. Ávila DM da S, Zanatta RF, Scaramucci T, Aoki IV, Torres CRG, Borges AB. Influence of bioadhesive polymers on the protective effect of fluoride against erosion. *J Dent.* 2017 Jan;56:45–52.
89. Subramanian V, Van Ooij WJ. Silane based metal pretreatments as alternatives to chromating. *Surf Eng.* 1999 Apr 19;15(2):168–72.
90. Cabral AM, Trabelsi W, Serra R, Montemor MF, Zheludkevich ML, Ferreira MGS. The corrosion resistance of hot dip galvanised steel and AA2024-T3 pre-treated with bis-[triethoxysilylpropyl] tetrasulfide solutions doped with Ce(NO₃)₃. *Corros Sci.* 2006;48(11):3740–58.
91. Capelossi VR, Aoki IV. Influence of sonication on anticorrosion properties of a sulfursilane film doped with Ce (IV) on galvanized steel. *Prog Org Coatings.* 2013;76(5):812–20.
92. Parkhill RL, Knobbe ET, Donley MS. Application and evaluation of environmentally compliant spray-coated ormosil films as corrosion resistant treatments for aluminum 2024-T3. *Prog Org Coatings.* 2001;41(4):261–5.
93. Vreugdenhil AJ, Balbyshev VN, Donley MS. Nanostructured silicon sol-gel surface treatments for Al 2024-T3 protection. *J Coatings Technol.* 2001;73(915):35–43.

94. Zoppi RA, Nunes SP. Uso do processo sol-gel na obtenção de materiais híbridos organo-inorgânicos: preparação, caracterização e aplicação em eletrólitos de estado sólido. *Polímeros*. 1997;7(4):27–36.
95. Alfaya AAS, Kubota LT. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. *Quim Nova*. 2002;25(5):835–41.
96. José N, Prado L. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. 2005;
97. Zheludkevich ML, Miranda Salvado I, Ferreira MGS. Sol–gel coatings for corrosion protection of metals. *J Mater Chem*. 2005;15(48):5099.
98. Haase MF, Grigoriev DO, Möhwald H, Shchukin DG. Development of Nanoparticle Stabilized Polymer Nanocontainers with High Content of the Encapsulated Active Agent and Their Application in Water-Borne Anticorrosive Coatings. *Adv Mater*. 2012 May 8;24(18):2429–35.
99. Sauvant-Moynot V, Gonzalez S, Kittel J. Self-healing coatings: An alternative route for anticorrosion protection. *Prog Org Coatings*. 2008;63(3):307–15.
100. Zhao Y, Zhang W, Liao L, Wang S, Li W. Self-healing coatings containing microcapsule. *Appl Surf Sci*. 2012;258(6):1915–8.
101. White SR, Sottos NR, Geubelle PH, Moore JS, Kessler MR, Sriram SR, et al. Autonomic healing of polymer composites. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):794–7.
102. Rule JD, Brown EN, Sottos NR, White SR, Moore JS. Wax-Protected Catalyst Microspheres for Efficient Self-Healing Materials. *Adv Mater*. 2005 Jan 31;17(2):205–8.
103. Yuan L, Liang G, Xie J, Li L, Guo J. Preparation and characterization of poly(urea-formaldehyde) microcapsules filled with epoxy resins. *Polymer (Guildf)*. 2006;47(15):5338–49.
104. Yuan YC, Rong MZ, Zhang MQ. Preparation and characterization of microencapsulated polythiol. *Polymer (Guildf)*. 2008;49(10):2531–41.

105. ZHANG W, XIN Y, ZHANG S, WANG H. Preparation and nano-mechanical properties of microcapsule for self-repairing of materials. *J Chem*. 2008;
106. Shchukin DG, Möhwald H. Smart nanocontainers as depot media for feedback active coatings. *Chem Commun*. 2011 Jul 26;47(31).
107. Montemor MF. Functional and smart coatings for corrosion protection: A review of recent advances. *Surf Coatings Technol*. 2014 Nov 15;258:17–37.
108. Silva AR V, Ferreira HC. Argilas bentoníticas: conceitos, estruturas, propriedades, usos industriais, reservas, produção e produtores/fornecedores nacionais e internacionais. 2008;3(2):26–35.
109. Feitosa SA, Münchow EA, Al-Zain AO, Kamocki K, Platt JA, Bottino MC. Synthesis and characterization of novel halloysite-incorporated adhesive resins. *J Dent*. 2015 Nov;43(11):1316–22.
110. Joussein E, Petit S, Churchman J, Theng B, Righi D, Delvaux B. Halloysite clay minerals — a review. *Clay Miner*. 2005 Dec 9;40(4):383–426.
111. Lvov YM, Shchukin DG, Moehwald H, Price RR. Halloysite Clay Nanotubes for Controlled Release of Protective Agents. *Am Chem Soc*. 2008;2(February 2016):814–20.
112. Packhauser C, Seidel N, Schnieders J. Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. *Microencapsulation*: 2005;
113. Feitosa SA, Palasuk J, Kamocki K, Geraldeli S, Gregory RL, Platt JA, et al. Doxycycline-Encapsulated Nanotube-Modified Dentin Adhesives. *J Dent Res*. 2014 Dec 1;93(12):1270–6.
114. Alkatheeri MS, Palasuk J, Eckert GJ, Platt JA, Bottino MC. Halloysite nanotube incorporation into adhesive systems—effect on bond strength to human dentin. *Clin Oral Investig*. 2015 Nov 10;19(8):1905–12.
115. Liu Y, Kumar S. Polymer/carbon nanotube nano composite fibers--a review. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2014 May;6(9):6069–87.

116. Pereira LGS, Joao-Souza SH, Bezerra SJC, Borges AB, Aranha ACC, Scaramucci T. Erratum to: Nd:YAG laser irradiation associated with fluoridated gels containing photo absorbers in the prevention of enamel erosion (Lasers in Medical Science, (2017), 32, 7, (1453-1459), 10.1007/s10103-017-2226-6). Vol. 32, Lasers in Medical Science. 2017. p. 1461.
117. Gonçalves F, Azevedo CLN, Ferracane JL, Braga RR. BisGMA/TEGDMA ratio and filler content effects on shrinkage stress. Dent Mater. 2011 Jun;27(6):520–6.
118. Schneider LFJ, Cavalcante LM, Prahl SA, Pfeifer CS, Ferracane JL. Curing efficiency of dental resin composites formulated with camphorquinone or trimethylbenzoyl-diphenyl-phosphine oxide. Dent Mater. 2012 Apr;28(4):392–7.
119. Canali GD, Rached RN, Mazur RF, Souza EM. Effect of Erosion/Abrasion Challenge on the Dentin Tubule Occlusion Using Different Desensitizing Agents. Braz Dent J. 2017 Apr;28(2):216–24.
120. Beltrán-Aguilar ED, Goldstein JW, Lockwood SA. Fluoride varnishes: A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety. J Am Dent Assoc. 2000;131(5):589–96.
121. Mok TB, McIntyre J, Hunt D. Dental erosion: in vitro model of wine assessor's erosion. Aust Dent J. 2001 Dec;46(4):263–8.

ANEXO A – 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

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo CEUA/FOUSP Nº 014/2017 referente ao projeto intitulado: **"Efeito anti-erosivo de uma película híbrida associada ou não ao fluoreto de sódio ou fluoreto de sódio mais cloreto de estanho em dente bovino"** 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, 06 de junho de 2017.

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