**GIOVANNI AGUIRRA LIBERATTI**

# Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste

São Paulo

2018

**GIOVANNI AGUIRRA LIBERATTI**

# Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste

**Versão Corrigida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Dentística

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Fávaro Francisconi dos Rios

São Paulo

2018

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

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

Liberatti, Giovanni Aguirra.
Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste / Giovanni Aguirra Liberatti ; orientador Luciana Fávaro Francisconi dos Rios. -- São Paulo, 2018.
94 p. : fig., tab. ; 30 cm.

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

1. Resistência de União – Odontologia. 2. Erosão de dente. 3. Abrasão dentária. 4. Adesivos dentinários. 5. Clorexidina. 6. Desgaste dentário. I. Francisconi-dos-Rios, Luciana Fávaro. II. Título.

Liberatti GA. Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: / /

**Banca Examinadora**

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____Julgamento: _____

**Dedico este trabalho...**

**A Deus,**

Pela glória de me proporcionar amor, vontade e inspiração, além da maior prova física de sua onipresença: as boas pessoas com quem convivi nesta fase.

**À minha mãe, Heleny,**

Por ter me apoiado na busca desse sonho: a nova mudança de cidade, a compreensão da nova jornada, o zelo em momentos de preocupação, o carinho, a ternura e a satisfação de me ver crescendo, independentemente dos obstáculos e percalços adjuntos. Ter você como mãe e amiga é um privilégio sem tamanho. Inspiro-me na sua coragem todos os dias. Orgulho imenso de ser seu filho! Te amo!

**Ao meu pai, Waldemar,**

Por ter reconhecido minha escolha e compreendido meus motivos, mesmo que não inteiramente presente, porém, zeloso.

**Às amigas e aos amigos,**

**Lucas Folster**, por sua notória presença, contribuição, apoio e paciência para lidar com o conterrâneo recém-chegado às terras paulistanas e oferecer-lhe abrigo, apoio e carinho, além das incontáveis caronas e viagens de volta para casa, em que pude conhecê-lo melhor e apreciar ainda mais sua amizade; **Igor Moreira**, por poder dividir e compartilhar mutuamente as derrotas e conquistas da vida da pós-graduação, além de participar ativamente, sem medir esforços e sempre que possível, nos momentos em que contei com seu auxílio; **Tainara Hernandez**, pelo apoio moral, racional e constante em momentos de desabafo em que pude contar com sua qualidade de boa ouvinte, bem-humorada e carinhosa; **Estevam Faraone** (Migué),

que mesmo à maior distância, manteve seu interesse e sua torcida pelo meu sucesso pessoal e profissional nesta fase, sempre disposto a ajudar e a ouvir; **Mirela Nazatto**, por contar com sua companhia nos momentos importantes de descontração e pela amizade de sempre; **Marcelo Favilla**, **Luís Tonolli** e **Dina** (Henrique Castro), por desfrutar da sua companhia na cidade universitária: quando me mudei, não sabia que os encontraria com tal frequência e isso contribuiu muito para que me sentisse à vontade nesse novo ambiente, em especial ao Marcelo, por contribuir ativamente ao meu desempenho no mestrado; **Díli** (Gustavo Cral), por poder contar com os momentos de alegria e desabafo sempre, acompanhado das visitas à capital, presenteando com sua companhia; **Wendy Hissano**, por estar presente ativamente nesta fase, e por contar com sua energia revigorante, animada e criativa; **Helena Burgos** e sua mãe, **Marli**, pela amizade de anos e pela contribuição ativa nesta fase; **Bia Rico**, por contar com sua companhia e apoio na vinda para São Paulo.

Aos amigos que sempre se mantiveram por perto, mesmo que à distância, na torcida: Kaká (Járede César), Tchelsy (Larissa Vasconcellos), Devas (Carol Fávero), Iracema (Melissa Nomiyama), Zeca (Matheus Lotto), Débora Spada, Fernando Filho, Bruna Ricci, Ana Gabriela Barros, Thayane Businari, Larissa Prando, Jéssica Gonçalves, Leandro Fazolli, Ana Amaral, Beatriz Malamud, Xoloni (Lucas Faraldo), Nicholas Versignassi, Isabella Belan, Patricia Kerges, Camila Perfeito, Maiara Falzoni e Fernanda Sandes. Aos amigos que proporcionaram apoio e contribuição para o meu desempenho: Kid (Vinicius Pollo), Tina (Mariana Sano), Gabriela Pyles, Gabriela Furniel, Caetano Grippo, Tcheco (Alexandre Ambrósio), Tica (Leticia Chihara), Pitel (Giovana Fusetto Veronesi) e Pt (Celso Della Volpe).

**Às amigas e aos amigos da pós-graduação,**

**Karin Landmayer**, por seu imenso apoio, companheirismo e confiança em todos os momentos, aprender com você foi um prazer e este trabalho não seria possível sem sua notável contribuição e recorrente auxílio, dotados de inteligência, perspicácia e boa vontade, além de contar com sua amizade singular e sempre bem-humorada; **Amanda Endres Willers**, pela parceria quase que imediata e amizade instantânea que abrilhantou meus dias, iluminando meus pensamentos e me guiando com sua luz racional e vívida, sendo zelosa em todos os momentos; **Erika Araújo**,

por estar presente em “dias de luta e dias de glória”, sempre inserindo riso e gargalhadas, trazendo leveza aos meus dias; **Fernanda Rodrigues**, por ser “meu cheiro” e poder contar sempre com sua companhia, amizade e carinho; **Olívia Vieira Aires**, por toda a estima e carinho cotidianos que levo comigo desde o dia em que nos conhecemos, além da companhia inestimável em diversos momentos dessa jornada; **Juan Fernando Ordóñez Aguilera**, por poder conter sempre com sua preciosa amizade e companheirismo, com todos os ensinamentos e reflexões agregados aos momentos que pudemos compartilhar; **Lucas Cortopassi**, pela amizade, companhia e gargalhadas que pudemos compartilhar, sua energia é contagiante; **Letícia Sakae**, por sua companhia, excelente humor e amizade em diversos momentos; **Carol Pardo Díaz**, por poder contar com sua ajuda sempre que precisei e, ainda que por menor tempo que os demais, poder contar com sua presença e desfrutar de sua amizade; **Juliana Couto Marques**, por todos os momentos de descontração que pudemos desfrutar em conjunto, estar ao seu lado e na sua presença trazem energia luminosa a quem se aproxima de ti; **Hermano Camelo Paiva**, pela amizade sincera, além da companhia em diversos momentos, almoços no bandejão e festas em que pude apreciar sua amizade; **Luiza Paz**, pela amizade, carinho, estima e diversos momentos em que pudemos compartilhar experiências e vivências; **Carol Santos**, por sempre estar próxima e poder contar com seu bom humor e amizade; **Aloísio Farias**, pela companhia, amizade e momentos em que trabalhamos juntos neste trabalho; **Laís Pizato**, pela energia boa, amizade e afeição que sempre traz consigo; **Rennan Santos**, pela estima, sem falar na espontaneidade com que consegue construir uma boa amizade; **Caio Colombini**, pela amizade e intercâmbio de ideias incrível que tivemos, além da energia e humor singulares que carrega consigo; **Vanessa Moredo**, pela consideração, amizade e carinho; **Carlos Shimokawa**, pela amizade, ajuda sempre e pela companhia em diversos momentos; **Sávio Bezerra**, pela amizade, ajuda e companheirismo; **Claudia Meneses**, por sua amizade, companhia e estima; **Ítallo Viana**, por sempre poder contar com sua ajuda e amizade; **Thaís Nejm**, pela amizade e ajuda sempre que precisei. Gostaria de mencionar Fernanda Fernandes e Laura Nardello, por compartilhar experiências na pós-graduação. E também aos recém-chegados à minha vida na pós-graduação, com quem pude trocar vivências e desfrutar da amizade: **Leonardo Custódio**, **Samuel Paiva**, **Juliana Rodrigues**, **Yael Engel**, **Juliana Costa**, **Miriam Lumi**, **Diana Pereira**, **Sandra Cunha**, **Karolyne Moschella**, **Raquel Lopes, Júlio Queiroz**, **Iandara**

**Scardini** e especialmente à **Amanda Cavalcante**, com quem pude trabalhar e conviver mais intensamente.

Aprender com vocês foi muito mais prazeroso, tenho certeza! Que possamos sempre trabalhar juntos e na mesma harmonia. Estou aqui sempre que precisarem!

**Aos colegas do alojamento estudantil,**

Magno Henrique, Tone Ramos, Greisse Leal, Adíverson Lopes, Pedro Faidiga Passos, Marcelo Oliveira, Marcos Rafael Silva, Felipe Ramos, Leonardo Betfuer, Robinson Franco, Leonardo Poveda.

**Aos meus tios e às minhas tias, Tuco e Luciana, Djalma e Thaís, Leila e Sérgio, Damião e Maria Inês,**

Que ofereceram todo o suporte e cuidado, tanto para mim quando precisei, quanto para minha mãe durante a minha ausência.

**Aos meus primos e às minhas primas,**

João Victor, Isabela, Thássia, Aline e Vanessa, muito obrigado pelo apoio nesta fase e presença quando foram precisos.

**Agradeço imensamente a todos que colaboraram, de alguma maneira, para a realização desse sonho!**

## AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Luciana Fávaro Francisconi dos Rios,**

Por trazer imensa segurança, leveza e, sobretudo, sabedoria para esta fase da minha trajetória pessoal e profissional, confiando a mim as competências que pude aprender com seus ensinamentos cotidianos. Em todos os momentos passados juntos nestes meses, não há um em que eu possa dizer que não tirei uma lição, aprendi um gesto ou mesmo esclareci um ponto em todos os diálogos que traçamos. Ter o prazer da sua convivência foi ímpar e enriquecedor, e me inspira sempre! Muitíssimo obrigado pela oportunidade e pelo carinho!

Ao **Prof. Dr. Vahan Agopyan**, digníssimo reitor da Universidade de São Paulo.

Ao **Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha**, digníssimo diretor da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Ao **Prof. Dr. Celso Luiz Caldeira**, digníssimo coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Ao **Prof. Dr. Rafael Yague Ballester**, por facultar o uso de equipamento imperioso ao desenvolver deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Heitor Marques Honório**, pelos préstimos relacionados à análise estatística e pelo norte quanto ao assunto em estudo.

À **Profa. Dra. Linda Wang**, pela colaboração neste trabalho, pela amizade de sempre e pela presença nos momentos mais solícitos.

A todos os funcionários que colaboram para com as atividades do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, em especial, ao **Carlos**, da Sessão de Pós-Graduação, cujas visitas mensais sempre me trouxeram um novo conhecimento e/ou uma nova perspectiva. Aos funcionários da Dentística: **Selma, Aldo, Silvana,**

**Leandro e David**, por terem convivido comigo nesta fase, contribuindo com ajuda em diversos momentos e com sua amizade.

Ao **Serviço de Informação Documentária e Circulação** da FOUSP, em nome das **Sras. Glauci Elaine Damasio Fidelis** e **Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro**, pelo suporte e boa vontade.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)**, órgão fomento de meu mestrado (Código de Financiamento 001; Programa de Demanda Social, de 06/2017 a 12/2018).

À **Superintendência de Assistência Social da Universidade de São Paulo**, por me proporcionar moradia para cursar o mestrado nesta renomada instituição, e particularmente à assistente social **Gina Margareth Garcia Pimentel**, por acompanhar minha trajetória e tornar este sonho tangível.

Ao **Laboratório de Microscopia Confocal do Centro de Facilidades de Apoio à Pesquisa (CEFAP-USP)**, em nome do técnico **Mario Costa Cruz**, pela obsequiosa dedicação à obtenção das micrografias adiante apresentadas.

A todos os **professores e funcionários da FOUSP**, nomeadamente do departamento de Dentística, por sempre estarem dispostos a ajudar; em especial às professoras e professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, com quem tive o prazer de conviver, de compartilhar conhecimento e amizade, e que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho: **Profa. Dra. Adriana Bona Matos, Profa. Dra. Patricia Moreira de Freitas Costa e Silva, Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino, Profa. Dra. Carla Renata Sipert, Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin e Prof. Dr. Celso Luiz Caldeira**.

**“A verdadeira medida de um homem não se vê na forma como se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas em como se mantém em tempos de controvérsia e desafio.”**

**Martin Luther King Jr.**

## RESUMO

Liberatti GA. Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida.

O estabelecimento de interfaces adesivas no substrato dentinário artificialmente erodido, conceitualmente pobre em minerais, revestido por matriz orgânica exposta, é pouco promissor. Por ora, tornam-no similar àquele verificado para a dentina normal/hígida apenas a asperização ou, quando do uso de adesivos universais, a desproteinização com hipoclorito de sódio. Manter a camada de fibrilas colágenas, por meio do uso de inibidores de proteinases, talvez mesmo que compactada por abrasão, pode, porém, ser conveniente, já que desempenha importante papel nos processos de des e remineralização, inclusive contendo a progressão do desgaste erosivo e erosivo-abrasivo, e no estabelecimento de uma camada híbrida propriamente dita. Avaliou-se, pois, de imediato, a resistência de união do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina, considerando-se como fatores experimentais a condição desse substrato, em três níveis (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado), e a aplicação de um gel para prevenção/controle do desgaste erosivo em três níveis (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%). Para determinação do substrato normal, a dentina superficial oclusal de terceiros molares foi apenas submetida à ação de uma lixa de SiC (#600; 1 min; N); para a do erodido e do erodido-abrasionado, sequencialmente, de pronto, a desafio erosivo inicial (Coca-Cola®; 5 min). Aplicou-se sobre ela, então, ou não (controle/sem aplicação), um dos géis: placebo/sem princípio ativo; ou à base de CHX a 0,12%. Aquela de início desmineralizada ainda foi submetida à ciclagem de pH (Coca-Cola®; imersões de 5 min, 3x/dia, 5 dias), determinando-se, fatidicamente, o substrato erodido (E), ou a ciclagem de pH associada a escovação (escova elétrica/dentifrício com flúor diluído em água, 2,5 N, 30 s, 2x/dia, após 1º e último desafios ácidos), determinando-se o substrato erodido-abrasionado (EA). Após condicionamento ($H_3PO_4$ a 37%; 15 s; lavagem 30 s; secagem com papel absorvente), o adesivo Adper™ Single Bond 2® foi aplicado em todos os espécimes e a porção coronária, reconstruída com a resina

Filtek™ Z350®. Transcorridas 24 h (água destilada / 37˚C), os espécimes foram seccionados em palitos e testados (μTBS; 0,5 mm/min). Os valores de RU obtidos foram organizados considerando-se cada dente como unidade experimental e os testes de Análise de Variância a 2 critérios e de Tukey, aplicados (α=0,05). Um dente extra para cada grupo foi tratado exatamente como os outros, mas o corante fluorescente rodamina B foi previamente adicionado (0,16 mg/mL) ao sistema adesivo para permitir a avaliação qualitativa da interface adesiva por meio de Microscopia Confocal de Varredura a Laser. Diferentemente da variável aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (p=0,359), a variável condição do substrato dentinário exerceu influência significante sobre os resultados (p<0,001). Ademais, não houve interação entre elas (p=0,856). Os valores imediatos de RU ao substrato erodido e ao erodido-abrasionado, equivalentes entre si, foram sempre inferiores àqueles ao substrato normal, independentemente da aplicação, ou não, do gel de CHX, ou placebo, para prevenção/controle do desgaste erosivo. No tocante ao padrão de fratura dos palitos testados, as falhas adesivas e mistas foram predominantes em relação às coesivas, independentemente se em dentina ou em resina. Quanto à análise qualitativa, nota-se que *tags* resinosos se manifestam em maior número e comprimento nos substratos submetidos a desafio erosivo inicial, ou seja, o erodido e o erodido-abrasionado, independentemente da aplicação de qualquer estratégia para controle da progressão do desgaste. Dentre eles, para o substrato erodido, há uma identificável camada escura subjacente à de adesivo propriamente dito, entre os *tags* resinosos, representação da menor concentração de material marcado por rodamina B. Para o substrato erodido-abrasionado, verifica-se camada híbrida devidamente expressa por anuviado vermelho subjacente à camada de adesivo, mais e menos espessa, respectivamente, que a estabelecida no substrato normal e erodido. Destarte, conclui-se que o gel de CHX não foi capaz de determinar, por meio da preservação/controle do desgaste erosivo, ou erosivo-abrasivo, substrato tão favorável à adesão com os materiais resinosos quanto o normal, mesmo que não o tenha desajudado ainda mais.

Palavras-chave: Dentina. Desgaste Dentário. Erosão Dentária. Abrasão Dentária. Inibidores de Proteases. Digluconato de Clorexidina. Adesivos Dentinários. Resistência de União.

## ABSTRACT

Liberatti GA. Bond strength to eroded and eroded-abraded dentin depending on the application of chlorhexidine for the control of tooth wear [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida.

The establishment of adhesive interfaces on artificially eroded dentin substrate, conceptually poor in minerals, coated with an exposed organic matrix, is little promising. For the time being, only diamond bur surface roughening and deproteinization with sodium hypochlorite, when universal adhesives are used, make it similar to the obtained for normal/sound dentin. Maintaining the layer of collagen fibrils, using protease inhibitors, perhaps even when compressed by abrasion, may, however, be convenient, since it plays an important role in the demineralization and remineralization processes, including the erosive and erosive-abrasive wear progression, and in establishing a hybrid layer itself. The aim of this study was to evaluate, immediately, bond strength (BS) of an etch-and-rinse adhesive system plus a composite to dentin, considering the condition of its substrate in three levels (N: normal; E: eroded; EA: eroded-abraded), and the application of a gel for the prevention/control of the erosive wear in three levels (C: control / without application, P: placebo / without an active principle, and CHX: 0.12% chlorhexidine digluconate). To determine the normal substrate, occlusal dentin from third molars was subjected solely to the action of a SiC sandpaper (# 600; 1 min; N); to determine the eroded and eroded-abraded, it was sequentially, and readily, subjected to an initial erosive challenge (Coca-Cola®, 5 min). One of the gels were applied, or not (control / without application), on it: placebo / without active principle; or containing 0.12% CHX. The initial demineralized one was still submitted to a pH cycling (Coca-Cola®, immersions of 5 min, 3x /day, 5 days), determining the eroded substrate (E), or to the pH cycling associated to brushing (electric toothbrush/fluoride toothpaste diluted in water, 2.5 N, 30 s, 2x/day, after 1st and last acid challenges), determining the eroded-abraded substrate (EA). After acid-etching (37% $H_3PO_4$, 15 sec, 30 sec washing, drying with absorbent paper), Adper™ Single Bond 2® adhesive was applied to all specimens and resin composite buildups constructed with Filtek™Z350®. After 24 h (distilled water / 37˚C), specimens were sectioned in beams and tested (µTBS, 0.5 mm/min). BS values obtained were organized considering each tooth as an experimental unit and a two-

way ANOVA and Tukey test, applied (α=0.05). An extra tooth for each group was treated exactly like the others, but rhodamine B fluorescent dye was previously added (0.16 mg / mL) to the adhesive system to allow qualitative evaluation of the adhesive interface by means of Confocal Laser Scanning Microscopy. Differently from the variable application of gels for prevention/control of erosive wear (p=0.359), the condition of the dentin substrate had a significant influence on the results (p<0.001). In addition, there was no interaction between them (p=0.856). Immediate BS values to eroded and eroded-abraded substrates, equivalent to each other, were always lower than that to the sound substrate, regardless of the application, or not, of the CHX or the placebo gel for prevention/control of erosive wear. Concerning the fracture pattern of the tested beams, adhesive and mixed failures were predominant in relation to the cohesive, regardless of whether in dentin or in resin composite. As for the qualitative analysis, it is noticed that resinous tags are manifested in greater number and length in the substrates submitted to erosive initial challenge, that is, eroded and eroded-abraded substrates, regardless of the application of any strategy to control progression of wear. Among them, for the eroded substrate, there is an identifiable dark layer underlying that of the adhesive itself, among the resin tags, representing the lowest concentration of material marked by rhodamine B. For the eroded-abraded substrate, hybrid layer is duly expressed by a red blur underlying the layer of adhesive, more and less thick than that established in the normal and eroded substrates, respectively. Therefore, it is concluded that the CHX gel was not able to determine, while preserving/controlling the erosive or erosive-abrasive wear, a substrate as favorable to bonding with resinous materials as a sound one, even if it has not impaired it even more.

Keywords: Dentin. Tooth Wear. Tooth Erosion. Tooth Abrasion. Protease Inhibitors. Chlorhexidine Digluconate. Dentin-Bonding Agents. Bond Strength.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES


Figura 4.1 Remoção do terço oclusal de cada terceiro molar, para exposição da dentina coronária, subjacente ao esmalte ..... 45

Figura 4.2 Padronização da *smear layer* formada sobre a superfície de dentina, por meio da ação de uma lixa de carbeto de silício de granulação 600, por 1 minuto, sob refrigeração constante com água destilada, em uma politriz metalográfica.....45

Quadro 4.1 Grupos experimentais.....46

Quadro 4.2 Destino dos demais dentes, que não pertencentes aos grupos experimentais propriamente ditos, a serem coletados para o estudo.....47

Quadro 4.3 Composição dos principais agentes utilizados para tratamento do substrato dentinário, conforme condições impostas pelos grupos experimentais.....47

Figura 4.3 Aplicação dos géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%).....49

Figura 4.4 Ciclagem de pH, para fatídico estabelecimento do substrato erodido (E): imersão em refrigerante à base de cola (Coca-Cola®; um novo frasco aberto a cada desafio), três vezes ao dia (8, 13 e 18 h), por 5 minutos, durante 5 dias, e armazenagem em saliva artificial, substituída diariamente, nos intervalos entre os desafios e durante a noite.....50

Figura 4.5 A e B: Escovação de um espécime em dispositivo metálico desenvolvido especificamente para este fim; C: Diluição de dentifrício com flúor em água destilada, na proporção de 1:2 (50 g de dentifrício para 100 g de água, conforme especificações ISO/14569-1, 2007); D: Indicação de força aplicada durante escovação (2,5 N) por meio de carinha com boca evertida no indicador de pressão do SmartGuide™ constituinte do kit da escova; E e F: Micropipeta utilizada para dispensar gota (~105 µL) de dentifícrio diluído em água sobre a dentina.....51

Figura 4.6 A: Condicionamento da superfície de dentina de todos os espécimes com ácido fosfórico a 37%, por 15 s; B: Lavagem pelo dobro do tempo; C: Secagem com papel absorvente; D: Aplicação de adesivo, de forma ativa (15 s), em duas camadas finas, com um leve jato de ar para facilitação da evaporação do solvente, previamente a fotoativação por 10 s.....52

Figura 4.7 A: Aposição do primeiro incremento de resina composta sobre o substrato; B: Acomodação com espátula; C: Mensuração de espessura

(~2 mm), com paquímetro, após acomodação; D: fotoativação por 20 s.....53

Figura 4.8 A e B: Seccionamento do conjunto espécime dentário-resina composta, perpendicular à interface adesiva, no sentindo vestíbulo-lingual; C: Seccionamento no sentido mésio-distal; D: Obtenção de palitos com área de seção transversal de aproximadamente 0,81 $mm^2$.....54

Figura 4.9 A: Fixação de um palito pelas extremidades a um "Jig de Geraldeli"; B: Adaptação do dispositivo contendo o palito em máquina de testes universal Instron 5942, para teste sob força de tração (célula de carga de 50 kgf) perpendicular à interface adesiva, a uma velocidade de 0,5 mm/min.....55

Figura 4.10 Microscópio digital utilizado para análise das superfícies fraturadas de ambos os segmentos de cada palito testado.....56

Figura 4.11 Aspecto das superfícies de cada um dos segmentos de cada palito testado, em função dos possíveis padrões de fratura - A e B: falha adesiva; C e D: falha mista; E e F: falha coesiva em dentina; G e H: falha coesiva em resina.....56

Figura 4.12 Representação do dente extra de cada grupo, tratado exatamente como os outros, mas com o sistema adesivo previamente marcado pela adição do corante fluorescente rodamina B (0,16 mg/mL) e seccionado apenas mesio-distalmente, para avaliação qualitativa da interface adesiva por meio de MCVL.....57

Tabela 5.1 Valores médios±desvio padrão de resistência de união (MPa) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina em função da condição desse substrato (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado) e da aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%)*.....59

Tabela 5.2 Percentual (%) de falhas do tipo adesiva (A), mista (M), coesiva em dentina (CD) ou coesiva em resina (CR) em função em função da condição desse substrato (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado) e da aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%).....60

Figura 5.1 Imagem de MCVL de interface adesiva estabelecida em substrato normal (N) sem aplicação de gel (C: controle).....61

Figura 5.2 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato normal (N) com aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P).....61

Figura 5.3 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato normal (N) com aplicação de gel com CHX a 0,12% (CHX).....61

Figura 5.4 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido (E) sem aplicação de gel (C: controle).....61

Figura 5.5 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido (E) com aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P).....61

Figura 5.6 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido (E) com aplicação de gel com CHX a 0,12% (CHX).....61

Figura 5.7 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido-abrasionado (EA) sem aplicação de gel (C: controle).....62

Figura 5.8 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido-abrasionado (EA) com aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P).....62

Figura 5.9 Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido-abrasionado (EA) com aplicação de gel com CHX a 0,12% (CHX).....62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| A | adesiva/ *adhesive* |
| ANOVA | análise de variância/ *analysis of variance* |
| BS | *bond strength* / resistência de união |
| C | controle / *control* |
| CaCl | cloreto de cálcio / *calcium chloride* |
| CCs | cisteíno-catepsinas / *cystein cathepsins* |
| CD | coesiva em dentina / *cohesive in dentin* |
| CHX | clorexidina / *chlorhexidine* |
| $cm^2$ | centímetro(s) quadrado(s) / *square centimeter (s)* |
| CR | coesiva em resina / *cohesive in composite resin* |
| E | substrato erodido / *eroded substrate* |
| EA | substrato erodido-abrasionado / *eroded-abraded substrate* |
| EGCG | epigalocatequina 3-galato / *epigallocatechin 3-gallate* |
| FOUSP | Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo / *School of Dentistry of the University of São Paulo* |
| h | hora (s) / *hour (s)* |
| KCl | cloreto de potássio / *Potassium chloride* |
| kgf | quilograma(s)-força / kilogram-force |
| $KH_2PO_4$ | fosfato de potássio monobásico / *Potassium phosphate monobasic* |
| M | mista / *mixed* |
| MCVL | microscopia confocal de varredura a laser / *confocal laser scanning microscopy* |
| mg/mL | miligrama(s) por mililitro(s) / *milligram (s) per mililiter (s)* |
| $MgCl_2.6H_2O$ | cloreto de magnésio hexahidratado / *magnesium chloride hexahydrate* |
| min | minuto(s) / *minute(s)* |
| mm | milímetro(s) / *millimeter (s)* |
| mM/L | milimolar(es) por litro / *millimolar (s) per liter* |
| mm/min | milímetro(s) por minuto / *millimeter(s) per minute(s)* |
| $mm^2$ | milímetro(s) quadrado(s) / *square millimeter (s)* |

| | |
|---|---|
| MMPs | metaloproteinases da matriz / matrix metalloprotein |
| MPa | megapascal (s) / *megapascal (s)* |
| N | substrato normal / *normal substrate* |
| NaCl | cloreto de sódio / *Sodium chloride* |
| $NaN_3$ | azida sódica / *Sodium azide* |
| P | placebo / *placebo* |
| p | nível de significância / *significance level* |
| pH | potencial hidrogeniônico / *hydrogen potential* |
| rpm | rotação(ões) por minuto / *rotations per minute* |
| RU | resistência de união / *bond strength* |
| s | segundo (s) / *second (s)* |
| SiC | carbeto de silício / *Silicon carbide* |
| µL | microlitro / *microliter* |
| µm | micrômetro(s) / *micrometer(s)* |
| µTBS | resistência de união à microtração / *microtensile bond strength* |

## LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---|---|
| ® | marca registrada / *registered trademark* |
| % | por cento / *percent* |
| x | vezes / *multiplication sign* |
| / | por / *per* |
| ™ | marca não registrada / *trademark* |
| ˚C | grau (s) Celsius / *degree (s) Celsius* |
| α | nível de significância / *significance level* |
| = | igual / *equals* |
| < | menor / *less-than sign* |
| n˚ | número / *numero sign* |
| ± | mais ou menos / *plus-minus sign* |
| ~ | aproximadamente / *approximately* |

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO ..... 27**

**2 REVISÃO DE LITERATURA ..... 31**

2.1 ADESÃO AO SUBSTRATO DENTINÁRIO NORMAL E ERODIDO ..... 31

2.2 ATIVIDADE PROTEOLÍTICA NA EROSÃO E NA EROSÃO-ABRASÃO ..... 35

2.3 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA NA ADESÃO, NA EROSÃO E NA EROSÃO-ABRASÃO ..... 38

**3 PROPOSIÇÃO ..... 41**

**4 MATERIAL E MÉTODOS ..... 43**

4.1 OBTENÇÃO DOS DENTES HUMANOS ..... 43

4.2 EXPOSIÇÃO DA DENTINA E DETERMINAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS ..... 44

4.3 TRATAMENTO DO SUBSTRATO DENTINÁRIO ..... 48

4.4 PROCEDIMENTOS ADESIVOS/RESTAURADORES ..... 51

4.5 TESTES DE MICROTRAÇÃO ..... 53

4.6 AVALIAÇÃO EM MCVL ..... 57

4.7 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS ..... 57

**5 RESULTADOS ..... 59**

**6 DISCUSSÃO ..... 63**

**7 CONCLUSÃO ..... 69**

**REFERÊNCIAS ..... 71**

**ANEXOS ..... 87**

# 1 INTRODUÇÃO

Por ora, não existe um método padrão-ouro capaz de otimizar, por completo, a restauração, com resina composta, da dentina erodida (Deari et al., 2017), pobre em minerais, teoricamente revestida por uma camada superficial de fibrilas de colágeno (matriz orgânica exposta) (Breschi et al., 2002; Lussi et al., 2011). A retenção do material às lesões, no geral rasas e planas (Ganss; Lussi, 2014), fundamenta-se, entretanto, no sucesso das estratégias adesivas aí empregadas, pouco discutidas pela controversa literatura correlata (Augusto et al., 2018).

Apenas a asperização da dentina erodida, com ponta diamantada, por exemplo, que invariavelmente promove exposição do substrato subjacente, não comprometido, faz com que os valores de resistência de união à mesma se tornem equivalentes àqueles à dentina normal/hígida (Zimmerli et al., 2012). Em similaridade, a aplicação de hipoclorito de sódio (NaOCl), agente proteolítico inespecífico (Yamauti et al., 2003), revelou-se, mui recentemente, alternativa à asperização, ainda que de modo especial quando sistemas adesivos universais foram os utilizados (Augusto et al., 2018; Siqueira et al., 2018). Isto pode se justificar, em particular, pela capacidade de tal substância, além de eliminar a porção orgânica, alterar significativamente o conteúdo mineral da dentina sob ela, aumentando a relação Ca/P em sua superfície (Baumgartner; Mader, 1987; Baumgartner; Cuenin, 1992) e, por conseguinte, sua interação com os monômeros funcionais (Siqueira et al., 2018). O que se promove, contudo, por meio de ambas as estratégias é, em última instância, a indesejável remoção de estrutura dentária.

Manter a matriz orgânica da dentina pode ser, em todo caso, interessante, até porque, como bem destacam Deari et al. (2017), o substrato dentinário pobre em colágeno é pouco conveniente ao estabelecimento de uma camada híbrida propriamente dita. No sentido, valores reduzidos de RU imediata à dentina foram observados tanto quando apenas de sua erosão, quanto quando de erosão seguida por aplicação de NaOCl previamente à restauração, utilizando-se sistema adesivo do tipo condicione e lave simplificado (Siqueira et al., 2018). Ademais, tal matriz desempenha importante papel nos processos de des e remineralização, inclusive refreando a progressão do desgaste (Klont; ten Cate, 1991; Kleter et al., 1994; Ganss

et al., 2004; Hara et al., 2005; Kato et al., 2009, 2010b), já que a difusão iônica através dela é dificultada (Ganss et al., 2004; Hara et al., 2005).

Soluções e/ou géis contendo antiproteolíticos, como o digluconato de clorexidina (CHX) (Gendron et al., 1999), têm sido empregados, pois, para minimizar tanto a degradação de interfaces adesivas (Hebling et al., 2005; Carrilho et al., 2007a, 2007b; Komori et al., 2009; Loguercio et al., 2009; Breschi et al., 2008, 2010a; Tjäderhane et al., 2013, 2015), quanto a progressão do desgaste erosivo (Ganss et al., 2004, 2007b; Hara et al., 2005; Kato et al., 2009, 2010a; Magalhães et al., 2009; Buzalaf et al., 2010, 2012, 2015; Tjäderhane et al., 2013, 2015; Boteon et al., 2017a, 2017b), já que sobrepujam a hidrólise do emaranhado de fibrilas pela ação de enzimas intrínsecas do hospedeiro, tais quais as metaloproteinases da matriz (MMPs), caracteristicamente, e, quiçá, as cisteíno-catepsinas (CCs) e outras a ainda serem identificadas no complexo dentinopulpar (Turk et al., 1997; Dickinson, 2002; Visse; Nagase, 2003; Li et al., 2004; Hannas et al., 2007; Tersariol et al., 2010; Nascimento et al., 2011; Scaffa et al., 2012).

Associando ambas as premissas e reconhecendo que os processos envolvidos na erosão podem antecipar ou potencializar a atividade proteolítica na dentina (Hebling et al., 2005; Komori et al., 2009; Nascimento et al., 2011; Tjäderhane et al., 2015), Francisconi-dos-Rios et al. (2015a) avaliaram o efeito da aplicação dessas soluções, em diferentes concentrações, como *primer* antiproteolítico constituinte do tratamento adesivo do substrato, na RU, imediata e em médio prazo, à dentina erodida. Na sequência, avaliaram a real longevidade do efeito dessa solução, a 2% (Francisconi-dos-Rios et al., 2015b). Mesmo que apenas nessa concentração e tão somente em médio prazo tal substância minimizasse a degradação da interface adesiva, não foi capaz de tornar os valores de RU à dentina erodida equivalentes àqueles verificados para a dentina normal, seja imediatamente, seja após envelhecimento (6 ou 12 meses). Inoportunamente, adiante, o uso dessa mesma solução, com mesma finalidade, reduziu os valores de resistência de união à dentina normal e à erodida, mesmo que apenas aqueles à primeira tenham sido negativamente acometidos pelo passar do tempo (Giacomini et al., 2017). Outra vez, por fim, tal uso, agora seguido de lavagem, estabeleceu valores de RU à dentina erodida equivalentes àqueles quando do não uso e inferiores àqueles à dentina normal (Deari et al., 2017).

Atuando, porém, como agente para prevenção/controle do desgaste erosivo, a CHX poderia determinar, além de minimizada perda de estrutura dentária, substrato dentinário com espessura diferenciada da zona superficial desmineralizada (Deari et al., 2017), potencialmente mais favorável ao estabelecimento de interface adesiva.

Com base na observação de que, no que se refere à adesão à dentina erodida, a performance de adesivos universais é independente do condicionamento do substrato com ácido fosfórico como passo independente dos demais (Siqueira et al., 2018), até se cogita, quando do uso de sistemas do tipo condicione e lave, a possibilidade de a camada superficial orgânica limitar a ação de tal ácido, desmineralizando-se menor espessura total de dentina intertubular e, ora, favorecendo-se a impregnação da maior parte dela por monômeros resinosos.

Especula-se, no sentido, o fato de tal matriz apresentar capacidade tampão: quando de um desafio ácido a partir da superfície externa, ela pode absorver H+, protegendo a dentina subjacente de uma queda de pH (Kleter et al., 1994a; Buzalaf et al., 2015).

Talvez, ainda, a abrasão, por escovação, da dentina erodida possa exercer algum efeito em sentido similar, já que ambas as condições quase sempre se associam clinicamente e a escovação, conforme cresce a força com que é exercida, até o valor de 4 N, pode compactar a trama de colágeno, ao invés de removê-la (Ganss et al., 2007a, 2009; Kato et al., 2009; Hannas et al., 2016). Tornar-se-iam, pois, reduzidos os espaços entre as fibrilas e, em tese, mais difícil a difusão tanto do ácido erosivo, que acabaria por desmineralizar a dentina subjacente, quanto do fosfórico e do próprio sistema adesivo, através delas (Sano et al., 1994; Augusto et al., 2018 ).

É interessante, então, avaliar o papel da aplicação de CHX para prevenção/controle do desgaste na resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada, vez que se tem valorizado, cada vez mais, a busca por estratégias que favoreçam o estabelecimento de interfaces adesivas, já imediatamente, a substratos desfavoráveis à interação com materiais resinosos, via de regra encontrados em clínica (Giacomini et al., 2017). Na pior das hipóteses, em sendo o proposto ineficaz e, porquanto, a asperização indispensável, esta seria determinada em menor profundidade, poupando-se estrutura dentária e cumprindo-se para com a prática da famigerada odontologia minimamente invasiva.

# 2 REVISÃO DE LITERATURA

Subsidie o que se propõe a estudar a revisão da literatura correlata, apresentada, com vista a uma sistematizada compreensão, sob tópicos abaixo deliberados.

## 2.1 ADESÃO AO SUBSTRATO DENTINÁRIO NORMAL E ERODIDO

O fenômeno da adesão é definido como a força de atração entre átomos ou moléculas de duas superfícies semelhantes ou diferentes em íntimo contato, que pode resultar de um processo físico, químico ou mecânico, ao se colocar essas duas superfícies justapostas (Perdigão, 2007), e, por vezes, intermediadas por um agente de união (Buonocore, 1963).

A adesão física depende das forças de valência secundárias, as quais ocorrem em dipolos moleculares, e na interação da nuvem de elétrons desprotegidos. A adesão química é representada pelas forças de valência primárias, como ocorre nas ligações iônicas covalentes e metálicas, e ainda em certas forças de valência secundárias, que são as forças de Van der Walls, sendo, pois, na realidade, físico-química. Já a adesão mecânica se refere ao embricamento mecânico de um material sobre outro, a partir do seu aprisionamento dentro de cavidades naturais ou artificiais (Nakabayashi, 1998).

O produto da aplicação de sistemas adesivos sobre o substrato dentinário, que resulta, primordialmente, na formação de uma camada híbrida de monômeros e matriz colágena, é considerado adesão mecânica, de forma que os monômeros permeiam a superfície porosa da dentina, e, ao serem polimerizados, permanecem impregnados na trama de fibrilas colágenas (Nakabayashi, 1998; Perdigão, 2007). Alguns sistemas adesivos ainda se ligam, por meio de seus monômeros funcionais, quimicamente ao cálcio da hidroxiapatita, o que melhora significativamente a resistência de união à dentina, bem como a longevidade da interface (Buonocore, 1963; Van Meerbeek et al., 1994; Pashley; Carvalho, 1997; Nakabayashi, 1998; Yoshida et al., 2004; Yoshihara et al., 2011).

Via de regra, os sistemas adesivos do tipo condicione e lave são compostos por um iniciador ácido e soluções de monômeros hidrofílicos e hidrofóbicos. O iniciador ácido, no geral um ácido fosfórico de concentração variável de 30 a 40%, tem por objetivo condicionar a superfície dos substratos dentários (Van Meerbeek et al., 1994; Pashley; Carvalho, 1997).

Mais precisamente em dentina dita sadia, um substrato considerado normal, o ácido fosfórico remove o barro dentinário, ou *smear layer*, camada composta por resíduos do preparo cavitário e componentes orgânicos e inorgânicos, a fim de expor, consequentemente, e ainda ampliar, por meio da desmineralização da dentina peritubular, a embocadura dos túbulos dentinário, bem como, também por meio da desmineralização, a trama de fibrilas colágenas da dentina intertubular (Nakabayashi et al., 1992).

Este condicionamento permite, ao todo, e após a lavagem do ácido, uma melhor penetração dos monômeros resinosos do *primer*, solução hidrofílica, e do adesivo, solução hidrofóbica, e/ou do *primer*-adesivo, na trama colágena da dentina e na embocadura dos túbulos dentinários, buscando-se a condição clínica mais favorável à adesão: a formação de uma camada híbrida efetiva, uniforme, sem defeitos (Nakabayashi et al., 1992; Pashley; Carvalho, 1997), com toda a profundidade de dentina desmineralizada devidamente infiltrada, não restando fibrilas colágenas expostas e não envoltas por monômeros resinosos (Pashley; Carvalho, 1997).

Em substrato artificialmente erodido, no sentido, os sistemas adesivos têm sua efetividade comprometida, em tese pela intensa desmineralização do tecido dentinário (Buzalaf et al., 2015). Trata-se a erosão de processo químico de amolecimento superficial seguido, usualmente, de remoção patológica, crônica, localizada e irreversível de tecido duro dentário, na ausência da ação direta do biofilme (Ganss et al., 2011; West et al., 2011; Wang et al., 2014). Tal perda pode ser decorrente de processo de quelação, em pH aproximadamente neutro, mas, de maneira geral, o agente etiológico é um ácido (Eccles, 1982; Smith, 1989; Lussi et al., 1993; Piotrowski et al., 2001; Brunton; Hussain, 2001), procedente de fonte exógena (erosão extrínseca), endógena (erosão intrínseca) ou desconhecida (erosão idiopática) (Imfeld, 1996; Zero, 1996; Meurman; ten Cate, 1996; Moss, 1998; Lussi et al., 2004; Abrahamsen, 2005; Bartlett et al., 2008; Wilder-Smith et al., 2009; Spreafico, 2010).

De qualquer maneira, a ação desses ácidos atinge primeiramente o esmalte dentário, amolecendo-o, e quando o amolecimento não é revertido, removendo suas camadas gradativa e lentamente, até atingir a dentina subjacente (Kinney et al., 1995). Esta, quando alcançada e exposta ao meio bucal, diante de desmineralização, de início, da região entre as dentinas peri e intertubular, seguida daquela da peritubular e, por fim, da intertubular, deflagra a exposição de uma primeira camada de colágeno totalmente desmineralizada, a qual acoberta uma zona parcialmente desmineralizada de inconstante densidade mineral, que, por sua vez, é imediatamente seguida por dentina normal (Kinney et al., 1995; Francisconi-dos-Rios et al., 2015a).

A camada parcialmente desmineralizada tende a proteger a dentina normal remanescente, impedindo o avanço do processo erosivo até certo ponto, dificultando a difusão iônica dentro e fora da área de desmineralização (Kleter et al., 1994; Francisconi-dos-Rios et al., 2015a).

Em outras palavras, desafios ácidos, tanto os intencionais - para o condicionamento de tecido dentinário para a posterior aplicação de sistemas adesivos-, quanto os essencialmente erosivos, de origem extrínseca / intrínseca / idiopática - que resultam, em última instância, em desgaste erosivo-, refletem-se em um prejuízo mineral para a dentina e no encapsulamento incompleto das fibrilas colágenas na camada híbrida por parte dos monômeros resinosos, deixando-se permanentemente exposta boa parte da aludida trama. Vulnerável, ela fica suscetível à ação de enzimas proteolíticas (Breschi et al., 2004; Liu et al., 2011).

A atividade enzimática proteolítica, responsável pela degradação da matriz colágena, foi identificada pela primeira vez por Dayan et al. (1983) e devidamente explorada, mais tarde, por Tjäderhane et al. (1998), em função da detecção, no complexo dentinopulpar, da presença de metaloproteinases da matriz (MMPs).

Estas, responsáveis pela atividade gelatinolítica e colagenolítica através do tempo, mesmo em ambientes assépticos, trouxeram à tona a teoria da degradação enzimático-proteolítica intrínseca da matriz colágena da dentina, já que as enzimas – classicamente chamadas de endógenas –, são, via de regra, oriundas do hospedeiro, e não originárias de produtos de processos cariogênicos e/ou resultantes da proliferação bacteriana (Pashley et al., 2004). Na matriz dentinária, foram detectados ao menos quatro tipos de MMPs: a estromelisina-1 (MMP-3) (Mazzoni et al., 2011; Boukpessi et al., 2008), a colagenase (MMP-8) (Sulkala et al., 2007) e as gelatinases

A e B (MMP-2 e MMP-9, respectivamente) (Martin-De Las Heras et al., 2000; Mazzoni et al., 2007).

A ativação dessas enzimas em meio ácido foi identificada tanto em meio cariogênico (Nascimento et al., 2011), quanto após o condicionamento com ácido fosfórico (Mazzoni et al., 2006; Tersariol et al., 2010). O desvendar dos processos de ativação destas enzimas, tornou mais clara a compreensão dos fenômenos de degradação da matriz colágena dentinária (Tjäderhane et al., 1998; van Strijp et al., 2003), inclusive daqueles relacionados ao comprometimento de interfaces adesivas aí estabelecidas (Pashley et al., 2004). Tais enzimas, ditas proteases, participam ativamente da remodelação da matriz extracelular, sendo dependentes de íons metálicos $Zn^{2+}$ e $Ca^{2+}$, essenciais à atividade celular (Visse; Nagase, 2003).

Outro grupo de enzimas proteolíticas identificado na matriz orgânica colágena dentinária é o das proteases de cisteína, expresso pelo grupo das catepsinas lisossomais, que, em pH ácido e também na presença de água, são ativadas (Tersariol et al., 2010; Nascimento et al., 2011). Estas, também chamadas cisteíno-catepsinas (CCs), majoritariamente as dos tipos K e B (Garnero et al., 1999; Scaffa et al., 2017), têm um importante papel, sinérgico ao das MMPs, tanto na progressão das lesões cariosas, quanto na degradação da camada híbrida (Tersariol et al., 2010; Liu et al., 2011; Nascimento et al., 2011; Vidal et al., 2014).

Em conjunto, pois, a atividade das proteases mencionadas compromete a longevidade de restaurações em resina composta que se utilizam dos sistemas adesivos, em especial do tipo condicione e lave, como agente intermediário, sabidamente em tecido dentinário sadio/normal ou afetado por cárie (Tjäderhane et al., 1998), e hipotética e mais intensamente, naquele erodido (Kato et al., 2010a; Wang et al., 2014; Francisconi-dos-Rios et al., 2015a, 2015b). Por sinal, tem se atribuído particular atenção ao papel da degradação química, justamente pelas tais proteases, da camada superficial desmineralizada na própria progressão da erosão, e mesmo erosão-abrasão, em dentina (Ganss et al., 2004; Hara et al., 2005; Magalhães et al., 2009; Kato et al., 2009, 2010a).

## 2.2 ATIVIDADE PROTEOLÍTICA NA EROSÃO E NA EROSÃO-ABRASÃO

De fato, tem se compreendido cada vez melhor o papel da degradação química da camada superficial desmineralizada na progressão da erosão em dentina (Ganss et al., 2004; Hara et al., 2005; Magalhães et al., 2009; Kato et al., 2010b, 2009). Após amolecimento superficial e perda do esmalte camada a camada, por meio de um processo de dissolução mineral complexo e contínuo (Klont; ten Cate, 1991), expõe-se a matriz orgânica dentinária e ativam-se as MMPs, responsáveis por sua degradação. Desta forma, as colagenases MMP-8 e gelatinases MMPs-2 e -9 aumentam a velocidade do processo de desmineralização do tecido, uma vez que a própria matriz pode limitar a difusão iônica que ocorre dentro e/ou fora de sua superfície desmineralizada (Klont; ten Cate 1991; Kleter et al., 1994; Buzalaf et al., 2012).

Mantendo-se essa camada de matriz orgânica desmineralizada sobre o substrato dentinário parcialmente desmineralizado, o colágeno ali presente funciona como um obstáculo à propagação dos ácidos por sua espessura (Miguez et al., 2004). Sugere-se, ainda, que ela também apresenta capacidade tampão: durante o desafio erosivo de uma camada superior, a matriz colágena desmineralizada absorve íons H+, e, desta forma, protege a camada subjacente de dentina, evitando que seu pH caia (Kleter et al., 1994; Hannas et al., 2015).

A presença e manutenção da camada de matriz orgânica desmineralizada da dentina, torna-se, portanto, de suma importância para o controle da progressão do desgaste erosivo, inclusive por impedir adicional ativação da atividade proteolítica ao controlar o pH da região a ela subjacente (Tjäderhane et al., 1999; Hara; Zero, 2008).

Embora esta camada desmineralizada seja resistente, até certo ponto, à remoção pelas forças empregadas na escovação (Ganss et al., 2007a, 2009), parece mesmo, cada vez mais provável, que sua degradação por parte das MMPs próprias do hospedeiro é que aceleram a progressão da erosão dentinária (Hara et al., 2005; Ganss et al., 2004, 2007a). As MMPs, quando do desafio erosivo, têm sua ativação a partir da queda do pH; apenas iniciam sua atividade, porém, quando do tamponamento do meio, tendo o potencial de degradação aumentado à hora da neutralização (Tjäderhane et al., 1998). Esta é de responsabilidade da saliva, na qual, adversamente, também são encontradas enzimas proteolíticas, à parte das já

presentes na matriz orgânica dentinária (Tjäderhane et al., 1998; Kato et al., 2009; Magalhães et al., 2009).

Outrossim, simultaneamente às MMPs, as cisteíno-catepsinas (CCs) se comportam como um grupo identificado de enzimas proteolíticas endógenas, tão igualmente propulsor da degradação da matriz colágena (Tersariol et al., 2010). A catepsina-K encarrega-se de 98% da atividade colagenolítica das catepsinas, e difere-se das MMPs e das demais catepsinas por possuir a habilidade de clivar o colágeno helicoidal em vários sítios, gerando múltiplos fragmentos de colágeno (Garnero et al., 1999; Breschi et al., 2018). De modo inverso, outras catepsinas conseguem apenas clivar a parte telopeptídica não helicoidal do colágeno (Brömme; Wilson, 2011; Breschi et al., 2018). Ainda cabe destacar que, adversamente às MMPs, CCs, no geral, ativam-se e atuam em pH ácido (Tjäderhane et al., 1998).

Agindo, ora, de forma sinérgica, MMPs e CCs se localizam bem próximas entre si na matriz orgânica dentinária e sempre às margens de substratos-alvo (Nascimento et al., 2011). Estudos observacionais comprovam sua presença na matriz colágena, tanto na dentina sadia, quanto na afetada por cárie, indicando uma possível reação enzimática em cascata entre essas duas diferentes classes de proteases (Tjäderhane et al., 1998; Nascimento et al., 2011).

De mais a mais, há que se considerar o papel das mesmas na progressão do desgaste dentinário promovido por erosão associada a abrasão, condições propulsoras de perda tecidual que, em clínica, usualmente se processam em combinação (Eccles 1982; Kato et al., 2009). Soma-se, frequentemente, à ação de ácidos sobre o substrato dentário, aquela de processo friccional mecânico que não relacionado à mastigação, especialmente representado por escovação com dentifrício abrasivo (Eccles, 1982; Smith, 1989; Imfeld, 1996; Piotrowski et al., 2001; Oginni; Olusile, 2002; Litonjua et al., 2003).

Quanto ao esmalte, uma vez debilitado pelo desafio erosivo, torna-se mais suscetível às forças mecânicas da escovação (Attin et al., 2004; Magalhães et al., 2008; Kato et al., 2009), que contribuem à perda tecidual, até que a superfície amolecida pelo ácido seja totalmente removida. Quanto à dentina, por sua vez, não se observa, *in vitro*, por meio de perfilometria de contato ou mesmo ótica, e de microrradiografia longitudinal, progressão do desgaste quando da escovação após a erosão, independentemente das diferentes forças (até 4 N) com que a segunda é realizada (Prati et al., 2003; Ganss et al., 2009): a escovação compacta a trama de

colágeno, ao invés de removê-la (Ganss et al., 2007a, 2009; Kato et al., 2009; Hannas et al., 2016). Por suposto, então, tal camada controla a progressão do desgaste, a não ser que seja enzimaticamente degradada (van Strijp et al., 2003; Pashley et al., 2004), o que é dificultado, num contexto laboratorial, pela a ausência de enzimas proteolíticas oriundas da saliva (Tjäderhane et al., 1998), e mesmo pela já apontada capacidade tampão desta camada desmineralizada, quando da exposição a íons H+ frente a próximo desafio erosivo (Hannas et al., 2015).

Aliás, recentemente, Hannas et al. (2016) encontraram evidências de que adicionar inibidores de proteases a dentifrícios diminui o desgaste dentinário atribuído a escovações subsequentes a desafios erosivos. Associadas, pois, a resistência da camada orgânica à remoção mecânica (Ganss et al., 2004, 2007b, 2009, 2011) e à difusão iônica em seu interior (Kato et al., 2014; Kleter et al., 1994; Klont; ten Cate, 1991), podem explicar porque sua conservação relaciona-se à redução da progressão do desgaste erosivo em dentina (Ganss et al., 2004; Buzalaf et al., 2015; Comar et al., 2015).

Contudo, apesar da proteção proporcionada por esta camada desmineralizada, as proteases endógenas requerem apenas a presença de água e de certos íons metálicos para, de início, ou em constante baixo pH, tornarem-se capazes de clivar os peptídeos colágenos (Vidal et al., 2014; Tjäderhane et al., 2015).

À luz dessas evidências, tornou-se incessante a busca por se refrear a atividade de tais enzimas proteolíticas na matriz orgânica colágena dentinária, seja no controle da progressão do desgaste erosivo e erosivo-abrasivo (Kato et al., 2009, 2010a; Magalhães et al., 2009; Boteon et al., 2017), seja na minimização da degradação de interfaces adesivas estabelecidas nas mais diferentes condições desse substrato (Hebling et al., 2005; Carrilho et al., 2007a, 2007b; Loguercio et al., 2009; Komori et al., 2009; Breschi et al., 2010b, 2010a, Francisconi-dos-Rios et al., 2015a, 2015b; Giacomini et al., 2017; Farias-Neto et al., 2018).

## 2.3 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA NA ADESÃO, NA EROSÃO E NA EROSÃO-ABRASÃO

Efetivaram-se estratégias para obstar a atividade proteolítica na dentina com base, primordialmente, na aplicação de soluções de digluconato de clorexidina (CHX), comprovadamente capazes de inibir, de forma direta, a atividade das MMPs -2, -8 e -9 (Gendron et al., 1999; Scaffa et al., 2012), e, similarmente, mesmo a das CCs (Scaffa et al., 2012).

Trata-se de uma solução de fácil obtenção, por já estar presente no meio clínico ambulatorial, e de conhecidas e extensamente estudadas propriedades antifúngicas, bactericidas e bacteriostáticas (Stanley et al., 1989; Gendron et al., 1999).

Testada sob diversas concentrações e diferentes apresentações - ora solução, ora gel, ou mesmo incorporada a ácidos fosfóricos e diferentes sistemas adesivos - a CHX revelou sua eficácia em concentrações mínimas (0,2%, por exemplo) na preservação e longevidade da camada híbrida, a partir de uma propriedade outrora desconhecida: o potencial de inibição da atividade proteolítica em dentina (Carrilho et al., 2007a, 2007b; Brackett et al., 2009; Campos et al., 2009; Breschi et al., 2010b; Leitune et al., 2011; Mobarak 2011; Zheng et al., 2015; Loguercio et al., 2016).

Acredita-se que tal atividade atribuída à CHX deva-se a sua capacidade de quelar - ou seja, ligar-se a - íons metálicos dos quais dependem as proteases endógenas para realizar sua atividade, e, deste modo, dificultar a degradação da matriz extracelular por parte das MMPs, mais precisamente das enumeradas -2, -8 e -9, cujos íons metálicos $Ca^{2+}$ e $Zn^{2+}$ se ligam diretamente à solução, refreando a interação dos íons presentes na matriz colágena com as enzimas (Gendron et al., 1999).

Mais recentemente, verificou-se que as CCs, enzimas lisossomais encontradas e identificadas em tecido dentinário, tanto sadio quanto afetado por cárie (Tersariol et al., 2010; Nascimento et al., 2011), interagem eletrostaticamente com soluções de CHX, que inibem, então, sua atividade (Scaffa et al., 2012).

Além disso, a CHX como agente antimicrobiano de amplo espectro e inibidor inespecífico de MMPs, pode contribuir para com a estabilidade da camada híbrida

através de seu efeito detersivo, que pode facilitar a impregnação dos monômeros resinosos do sistema adesivo na dentina desmineralizada (Breschi et al., 2010b). Desta forma, passou a ser considerada como uma emergente alternativa para o controle dose-dependente da atividade das proteases endógenas presentes em dentina (Buzalaf et al., 2015), a propósito também no estabelecimento e conservação de interfaces adesivas no substrato dentinário erodido (Francisconi-dos-Rios et al., 2015a).

Nesse sentido, antes que uma restauração seja indicada para tratamento deste substrato, e daquele erodido-abrasionado, há que se atuar cessando-se, ou ao menos minimizando-se, a perda tecidual: justamente evitar a degradação da matriz orgânica mostrou ser capaz de adiar a progressão do desgaste (Kato et al., 2009, 2010a; Magalhães et al., 2009). Inibidores de proteases, tais como a CHX e os polifenóis do chá verde, especialmente a epigalocatequina-3-galato (EGCG) (Demeule et al., 2000; Garbisa et al., 2001; Sartor et al., 2002; Chaussain-Miller et al., 2006), têm sido, assim, empregados com sucesso no controle da evolução da erosão e da erosão-abrasão em dentina *in situ* (Kato et al., 2009, 2010a; Magalhães et al., 2009). Ambos ainda são capazes de interagir com íons metálicos (Gendron et al., 1999; Garbisa et al., 2001), o que pode resultar na deposição de partículas no interior dos túbulos dentinários, por meio da ligação da apatita ao cálcio. Tal fenômeno pode exercer influência sobre os processos de des/remineralização da dentina e, consequentemente, contribuir para a redução da progressão da erosão e da erosão-abrasão (Kato et al., 2009).

Quando aplicada como agente antiproteolítico para prevenção e controle do desgaste erosivo, a CHX foi capaz de inibir completamente o processo, inclusive mostrando desempenho superior ao de um fluoreto (Kato et al., 2010a). Avaliações em microscopia eletrônica de varredura confirmaram a ausência de desgaste na dentina tratada com CHX (Kato et al., 2012).

De qualquer maneira, mesmo que se supusesse, com base no papel da CHX tanto na estabilidade da adesão à dentina (Hebling et al., 2005; Carrilho et al., 2007a; Carrilho et al., 2007b; Breschi et al., 2008; Komori et al., 2009; Loguercio et al., 2009; Breschi et al., 2010a; Tjäderhane et al., 2013; Tjäderhane et al., 2015), quanto na progressão do desgaste erosivo nesse substrato (Magalhães et al., 2009; Kato et al., 2010a; Buzalaf et al., 2012; Buzalaf et al., 2015), que sua aplicação, em diferentes concentrações, como *primer* antiproteolítico constituinte do tratamento adesivo do

substrato, favoreceria os valores de resistência de união, imediata e em médio e longo prazo, à dentina erodida, a ponto de torná-los equivalentes àqueles à dentina normal, isso não fora o observado, em nenhum dos tempos (Francisconi-dos-Rios et al., 2015a, 2015b). Como o que se nota para a dentina normal, a CHX foi capaz apenas de minimizar a redução desses valores, por até 6, e não 12, meses de envelhecimento dos espécimes (Francisconi-dos-Rios et al., 2015a, 2015b).

A anulação do efeito inibitório de proteases pela CHX, em interfaces adesivas, e o consequente reinício da degradação da matriz extracelular, provavelmente justifica-se pelo seu mecanismo reversível de ligação, diante de exposição a outro cátion equivalente, e pela lixiviação do conjunto dentina-material resinoso (Gamal et al., 2011; Ricci et al., 2010a, 2010b).

Cogita-se, então, possível papel favorável da CHX no tratamento da dentina previamente a desafio erosivo, e pioneiramente erosivo-abrasivo, como forma de se prevenir/controlar a progressão do desgaste, e sua influência no estabelecimento, nos aludidos substratos, de interfaces adesivas, diante da não rara subsequente necessidade de restauração da estrutura dentária perdida, por razões funcionais e/ou estéticas.

Mesmo que o uso da CHX, como inibidora de proteases, na rotina clínica, tanto no que se refere à erosão e erosão-abrasão dentinárias, quanto no que tange as interfaces adesivas, não seja realidade ou estratégia absolutamente viável (Montagner et al., 2014), há que se investigar, ainda que de maneira exploratória, a sua potencialidade na associação das perspectivas dantes abordadas.

# 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo *in vitro* é avaliar, de imediato, o efeito de um gel de CHX, usado para prevenção/controle do desgaste, na resistência de união (RU) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina erodida e erodido-abrasionada, comparada à normal.

Como hipótese alternativa, pressupõe-se que tal gel será capaz de determinar, por meio da preservação/controle do desgaste, substrato erodido, ou erodido-abrasionado, tão favorável à adesão com os materiais resinosos quanto o normal.

# 4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo *in vitro*, conduzido de acordo com o preconizado pelo “CRIS Guidelines” (Krithikadatta et al., 2014), inclusive em sequência aleatória e de maneira cega, avaliou, imediatamente, a resistência de união do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina, considerando-se como fatores experimentais a condição desse substrato, em três níveis (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado), e a aplicação de um gel para prevenção/controle do desgaste erosivo em três níveis (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%). Ademais, considerando-se os mesmos fatores, nos mesmos níveis, avaliou-se qualitativamente a interface adesiva por meio de microscopia confocal de varredura a laser (MCVL).

As variáveis quantitativa e qualitativa de resposta foram, respectivamente, os valores de resistência de união à microtração (µTBS), em MPa, considerando-se cada dente como unidade experimental, e a descrição das imagens obtidas por meio de MCVL. O padrão de fratura dos palitos foi determinado com o auxílio de um microscópio digital (50x de aumento).

## 4.1 OBTENÇÃO DOS DENTES HUMANOS

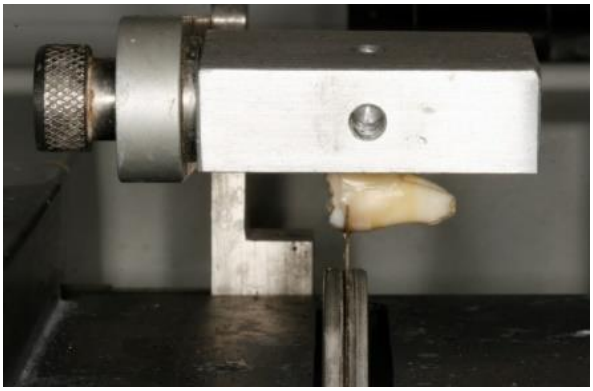
Após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (Anexo A), comprometeu-se o Biobanco da FOUSP - Divisão de Dentes Humanos a fornecer 90 terceiros molares humanos hígidos para condução de testes piloto (18 dentes) e para a realização do estudo propriamente dito (63 dentes). Determinou-se, ora, após seleção dos dentes de acordo com suas devidas dimensões, nove grupos experimentais, similares entre si, de 7 dentes cada. Um dente extra para cada grupo, ou seja, mais nove dentes (9 dentes), foram ainda, utilizados para devido tratamento e avaliação qualitativa da interface adesiva neles estabelecida por meio de MCVL. Note-se, pois, que se somando os dentes destinados aos testes piloto (18), ao estudo propriamente dito (63, divididos em nove grupos com 7 cada) e à avaliação por meio de MCVL (9, um

referente a cada grupo experimental), totalizaram-se os 90 terceiros molares acima descritos. Estes foram limpos com curetas periodontais para remoção de todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície dentária e, posteriormente, armazenados em solução de NaCl 0,9% e $NaN_3$ 0,02%, renovada periodicamente, onde ficaram imersos durante todo o período de preparo dos espécimes. Por meio de seccionamento em máquina de corte de precisão (Isomet Low Speed Saw; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), a porção coronária foi separada da porção radicular: a primeira, após remoção do esmalte oclusal, para exposição da dentina subjacente, foi, no desenrolar do trabalho, consumida, em função do preparo de palitos para microtração, não restando material biológico que devesse ser, ao final do estudo, devidamente descartado ou armazenado; a segunda foi devolvida ao Biobanco de Dentes Humanos da FOUSP, já que não foi utilizada.

## 4.2 EXPOSIÇÃO DA DENTINA E DETERMINAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Do total de 90 dentes, excetuando-se os utilizados em testes piloto (18) e os utilizados para MCVL (9), os 63 dentes selecionados para o estudo propriamente dito foram fixados com cera pegajosa no centro de um dispositivo metálico que foi acoplado à máquina de corte de precisão Isomet Low Speed Saw. Com o auxílio de um disco diamantado dupla face refrigerado com água destilada, a uma velocidade de 300 rpm, o terço oclusal dos terceiros molares foi removido, para exposição da dentina coronária, subjacente ao esmalte (Figura 4.1).

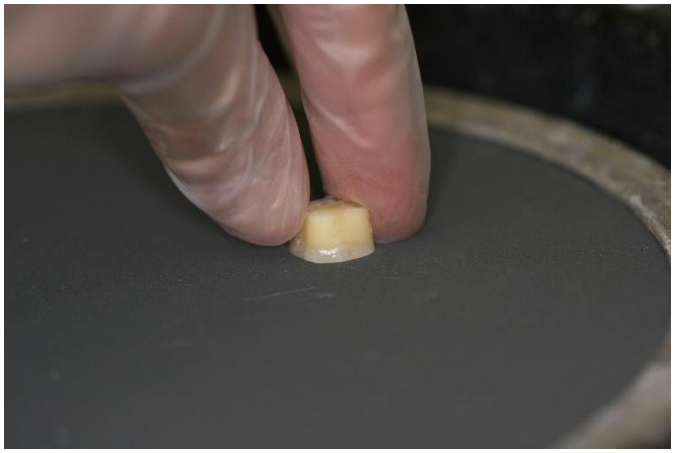
Figura 4.1 - Remoção do terço oclusal de cada terceiro molar, para exposição da dentina coronária, subjacente ao esmalte



Fonte: O autor

A superfície de dentina dos espécimes foi, então, submetida à ação de uma lixa de carbeto de silício de granulação 600, por 1 minuto, sob refrigeração constante com água destilada, em uma politriz metalográfica, para padronização da *smear layer* formada sobre a mesma (Figura 4.2), e a tratamento conforme condições impostas por cada um dos grupos experimentais (Quadro 4.1).

Figura 4.2 - Padronização da *smear layer* formada sobre a superfície de dentina, por meio da ação de uma lixa de carbeto de silício de granulação 600, por 1 minuto, sob refrigeração constante com água destilada, em uma politriz metalográfica



Fonte: O autor

Quadro 4.1 – Grupos experimentais

| **Grupo** | **Condição do substrato dentinário** | **Princípio ativo presente no gel para prevenção/controle do desgaste erosivo** |
|---|---|---|
| N.C (n=7) | Normal (N) | Sem aplicação de gel (C: controle) |
| N.P (n=7) | | Sem princípio ativo (P: placebo) |
| N.CHX (n=7) | | Digluconato de clorexidina a 0,12% (CHX) |
| E.C (n=7) | Erodido (E) | Sem aplicação de gel (C: controle) |
| E.P (n=7) | | Sem princípio ativo (P: placebo) |
| E.CHX (n=7) | | Digluconato de clorexidina a 0,12% (CHX) |
| EA.C (n=7) | Erodido-abrasionado (EA) | Sem aplicação de gel (C: controle) |
| EA.P (n=7) | | Sem princípio ativo (P: placebo) |
| EA.CHX (n=7) | | Digluconato de clorexidina a 0,12% (CHX) |

Fonte: O autor

Esclareça-se, apenas, abaixo, o destino dos demais dentes (Quadro 4.2):

Quadro 4.2 - Destino dos demais dentes, que não pertencentes aos grupos experimentais propriamente ditos, a serem coletados para o estudo

| Destino | Condição |
|---|---|
| **Testes piloto** (n=18) | Testes piloto |
| **MCVL** (n=9) | Um dente extra, com o sistema adesivo devidamente marcado por rodamina B, para cada um dos grupos N.C, N.P, N.CHX, E.C, E.P, E.CHX, EA.C, EA.P e EA.CHX, a ser qualitativamente avaliado por meio de MCVL |

Fonte: O autor

Sumarize-se, ademais, a composição dos principais agentes utilizados para tratamento do substrato dentinário, conforme condições impostas pelos grupos experimentais (Quadro 4.3):

Quadro 4.3 - Composição dos principais agentes utilizados para tratamento do substrato dentinário, conforme condições impostas pelos grupos experimentais

| Substância | Composição |
|---|---|
| **Coca-Cola®** | Água carbonada, extrato de noz de cola, cafeína, aroma natural, corante caramelo IV, acidulante ácido fosfórico, edulcorantes artificiais, conservador benzoato de sódio, regulador de acidez citrato de sódio; pH 2,5 |
| **Gel Placebo** | Hidroxietilcelulose, propilenoglicol, metilparabeno, imidazolidinilureia e água deionizada |
| **Gel CHX** | Hidroxietilcelulose, propilenoglicol, metilparabeno, imidazolidinilureia, água deionizada e digluconato de clorexidina a 0,12% |

| | |
|---|---|
| **Saliva artificial** | $CaCl_2$ 0,70 mM/L; $MgCl_2.6H_2O$ 0,20 mM/L; $KH_2PO_4$ 4,00 mM/L; KCl 30,0 mM/L; $NaN_3$ 0,30 mM/L; Tampão HEPES [ácido] 20,0 mM/L |

Fonte: O autor

## 4.3 TRATAMENTO DO SUBSTRATO DENTINÁRIO

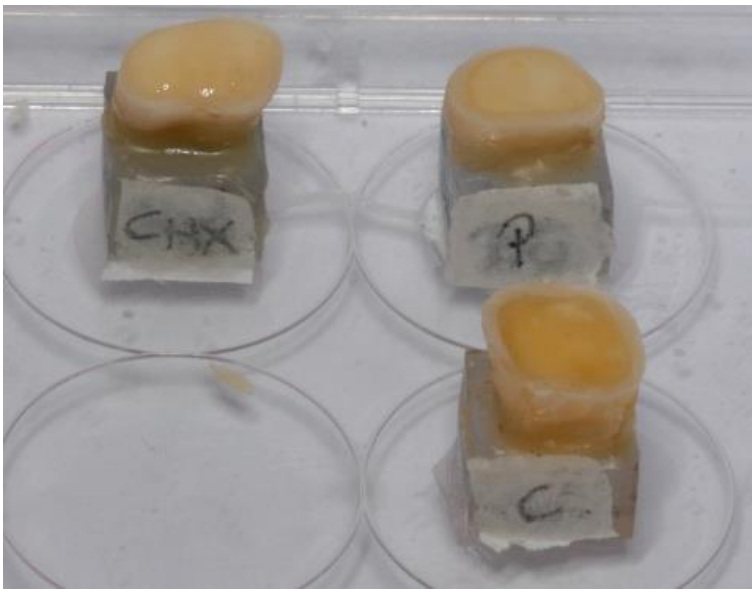
Finalizados os testes piloto (18 dentes, dos 90 totais, já utilizados), dos 63 dentes pertencentes ao estudo propriamente dito, as superfícies de dentina de 21 foram, então, diretamente conduzidas à etapa seguinte do experimento (Procedimentos adesivos/restauradores), determinando-se condição controle para a variável substrato (N: normal).

As de outros 42 dentes foram submetidas a desafio erosivo inicial, por meio da ação de refrigerante à base de cola Coca-Cola®, por 5 minutos, em temperatura ambiente. Tal desafio fora realizado a fim de se aplicasse, posteriormente, os géis para controle do desgaste erosivo sobre substrato já previamente desmineralizado, e só então se realizasse a ciclagem de pH, determinando-se o substrato erodido (E, n=21) ou a ciclagem de pH associada a escovação, determinando-se o substrato erodido-abrasionado (EA).

Do total de espécimes com substrato normal, um terço, ou seja, 7, foram diretamente conduzidos à etapa seguinte do experimento, determinando-se, naquele momento, condição controle (C: controle/sem aplicação; N.C [n=7]) para a variável aplicação de géis para controle do desgaste erosivo, com diferentes princípios ativos. Outro terço, isto é, outros 7 dentes, tiveram a superfície dentinária submetida a aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P; N.P [n=7]): com micropincel (Brush Fine Aplicadores Descartáveis, KG Sorensen, Cotia/SP - Brasil), em fina camada, e, após ação passiva por 5 min, remoção com hastes flexíveis com pontas de algodão (Cotonete, Johnson & Johnson do Brasil Indústria e Comércio de Produtos para Saúde Ltda., São José dos Campos/SP - Brasil). Em seguida, descansaram em umidade relativa e em temperatura ambiente por 2 h. Conforme este protocolo, o terço

remanescente foi submetido à aplicação de gel com digluconato de clorexidina a 0,12% (N.CHX [n=7]) (Figura 4.3).

Figura 4.3 - Aplicação dos géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%)




Fonte: O autor

Os espécimes submetidos à ciclagem de pH, para fatídico estabelecimento do substrato erodido (E), foram tratados, quanto à aplicação dos géis para prevenção/controle do desgaste erosivo, exatamente da forma como acima descrito (E.C [n=7], E.P [n=7], E.CHX [n=7]). Foram, então, armazenados, por 12 h, em temperatura ambiente, em saliva artificial e submetidos à ciclagem de pH, por 5 dias. Três vezes ao dia (8, 13 e 18 h), por 5 minutos, foram desafiados pelo refrigerante à base de cola (Coca-Cola®; um novo frasco aberto a cada desafio), em temperatura ambiente; antes e depois, foram devidamente lavados, por 20 s, com água destilada (Figura 4.4); e nos intervalos entre os desafios, inclusive durante a noite, foram armazenados em saliva artificial, substituída diariamente.

Figura 4.4 - Ciclagem de pH, para fatídico estabelecimento do substrato erodido (E): imersão em refrigerante à base de cola (Coca-Cola®; um novo frasco aberto a cada desafio), três vezes ao dia (8, 13 e 18 h), por 5 minutos, durante 5 dias, e armazenagem em saliva artificial, substituída diariamente, nos intervalos entre os desafios e durante a noite

Fonte: O autor

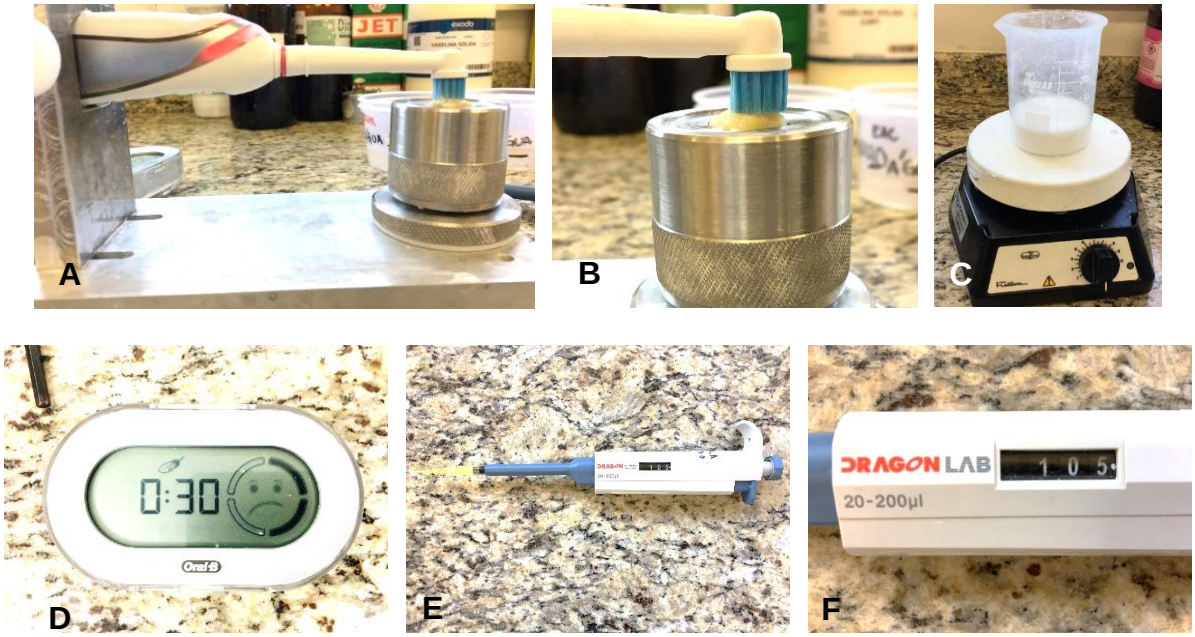
Já os espécimes a serem submetidos a ciclagem de pH associada a escovação, para estabelecimento do substrato erodido-abrasionado (EA), foram tratados com os géis e pelo refrigerante/saliva artificial exatamente como o substrato erodido.

Realizou-se, porém, 2 vezes ao dia (após o primeiro e o último desafio ácido de cada dia), nos 5 respectivos dias, escovação, por 30 s, com escova elétrica oscilatório-vibratória (Escova Dental Elétrica Oral-B Professional Care 5000; Procter & Gamble Co., Cincinnati/OH - EUA; 48800 movimentos/min) associada a cabeça circular de cerdas extra macias (Refil para Escova Elétrica Oral-B Sensitive Clean; Procter & Gamble Co., Cincinnati/OH - EUA). Para tal, utilizou-se força padronizada e constante (2,5 N, indicados pelo acendimento de luz vermelha no cabo da escova e/ou carinha com boca evertida no indicador de pressão do SmartGuide™ constituinte do kit da escova), e uma gota (~105 µL) de dentifrício com flúor (Colgate Máxima Proteção Anticáries, Palmolive Co., São Bernardo do Campo/SP - Brasil) diluído em água destilada, na proporção de 1:2 (50 g de dentifrício para 100 g de água, conforme especificações ISO/14569-1, 2007), dispensada sobre a dentina com auxílio de micropipeta.

Tanto a escova, quanto cada espécime, foram posicionados, de maneira padronizada, e mantidos fixos, durante a escovação, por meio da utilização de um dispositivo metálico desenvolvido especificamente para este fim (Figura 4.5A a 4.5F).

Entre cada escovação, de cada espécime, as cerdas foram lavadas com água destilada.

Figura 4.5 - A e B: Escovação de um espécime em dispositivo metálico desenvolvido especificamente para este fim; C: Diluição de dentifrício com flúor em água destilada, na proporção de 1:2 (50 g de dentifrício para 100 g de água, conforme especificações ISO/14569-1, 2007); D: Indicação de força aplicada durante escovação (2,5 N) por meio de carinha com boca evertida no indicador de pressão do SmartGuide™ constituinte do kit da escova; E e F: Micropipeta utilizada para dispensar gota (~105 µL) de dentifícrio diluído em água sobre a dentina



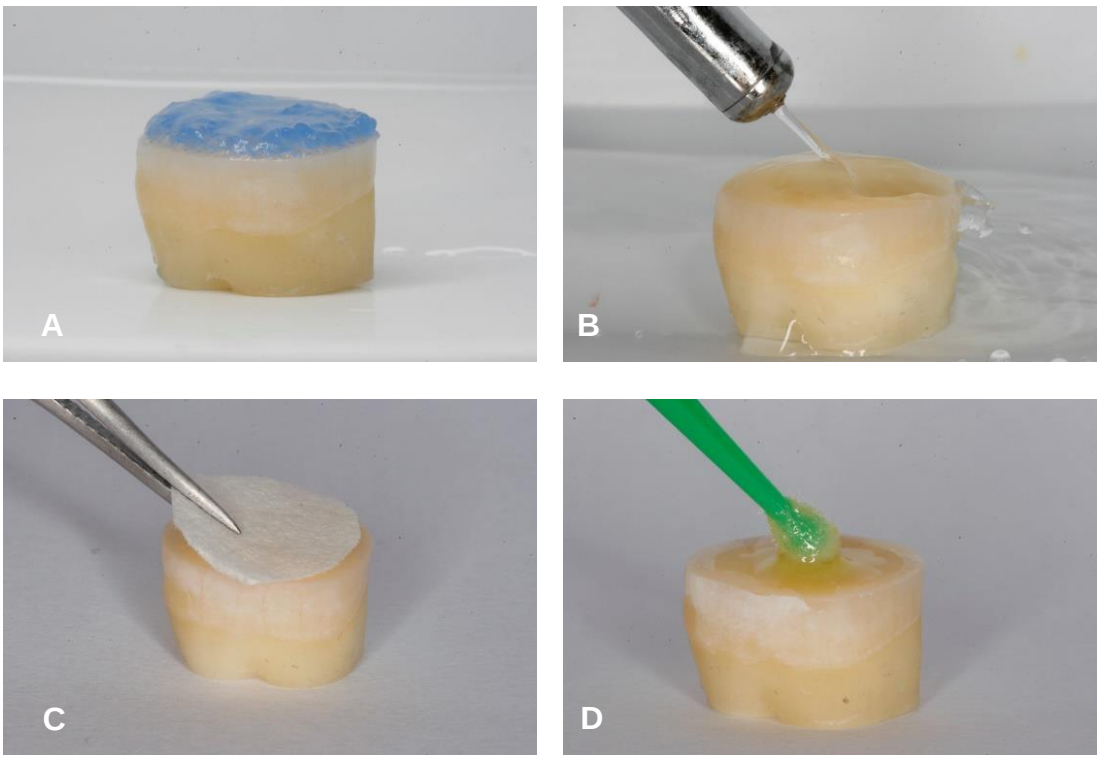

Fonte: O autor

## 4.4 PROCEDIMENTOS ADESIVOS/RESTAURADORES

Findas cada e todas as etapas do tratamento do substrato dentinário, conforme grupos experimentais, as respectivas superfícies de todos os espécimes foram, então, condicionadas com ácido fosfórico a 37% (Etching Dental Gel, Dentsply Indústria e Comércio; Rio de Janeiro/RJ, Brasil), por 15 s, lavadas pelo dobro do tempo, e secas com papel absorvente. Em seguida, receberam aplicação do sistema adesivo condicione e lave simplificado Adper™ Single Bond 2® (3M ESPE Division, St. Paul/MN - EUA), conforme recomendações do fabricante: de forma ativa (15 s),

em duas camadas finas (Figuras 4.6A a 4.6D), com um leve jato de ar para facilitação da evaporação do solvente, e fotoativação por 10 s (1000 mW/cm$^2$; Radii-cal, SDI, Bayswater/Vitoria - Austrália).

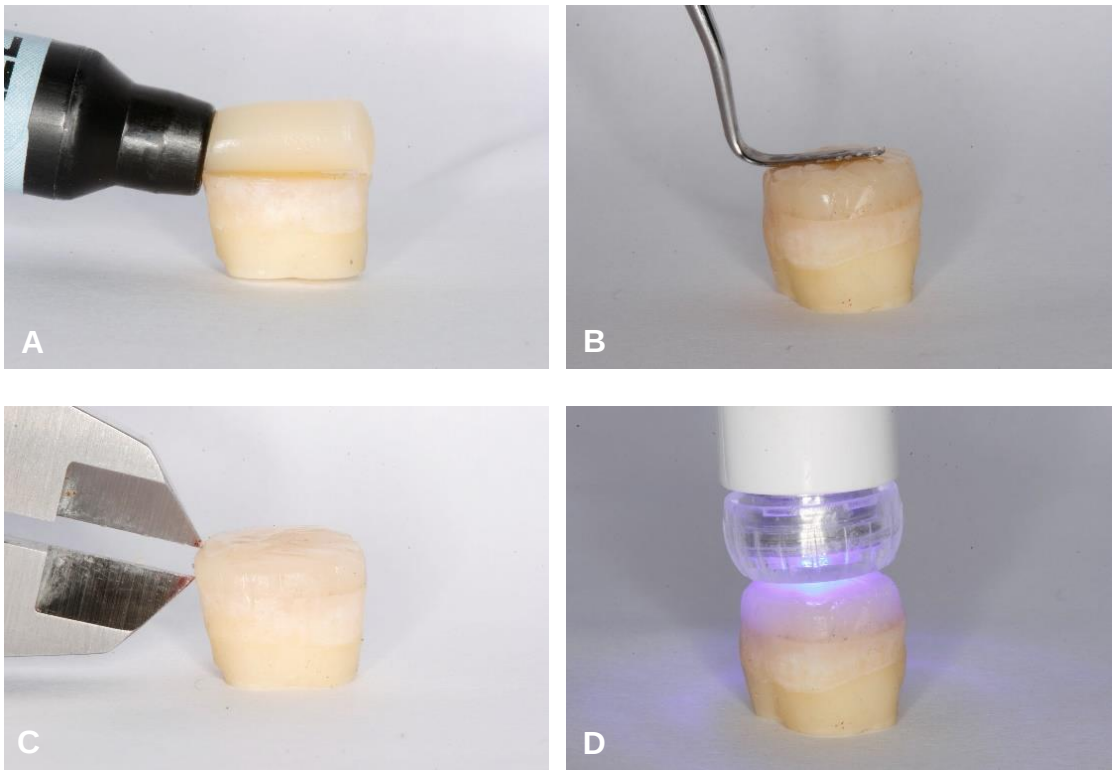
Figura 4.6 - A: Condicionamento da superfície de dentina de todos os espécimes com ácido fosfórico a 37%, por 15 s; B: Lavagem pelo dobro do tempo; C: Secagem com papel absorvente; D: Aplicação de adesivo, de forma ativa (15 s), em duas camadas finas, com um leve jato de ar para facilitação da evaporação do solvente, previamente a fotoativação por 10 s




Fonte: O autor

Dois incrementos (~2 mm de espessura cada) da resina composta nanoparticulada (Filtek™ Z350 XT®-cor A2; 3M ESPE Division, St. Paul/MN - EUA) foram aposicionados sobre os espécimes e cada um deles foi fotoativado por 20 s (Figuras 4.7A a 4.7D).

Figura 4.7 - A: Aposição do primeiro incremento de resina composta sobre o substrato; B: Acomodação com espátula; C: Mensuração de espessura (~2 mm), com paquímetro, após acomodação; D: fotoativação por 20 s

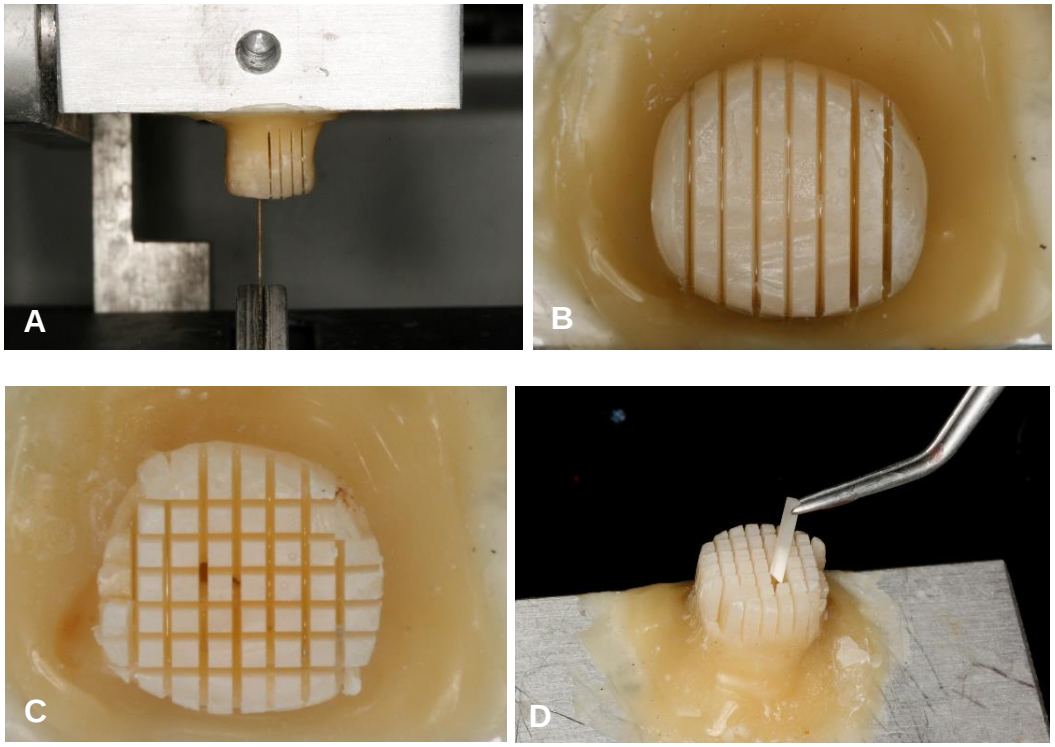



Fonte: O autor

## 4.5 TESTES DE MICROTRAÇÃO

O conjunto espécime dentário-resina composta foi levado à máquina de corte para seccionamento e obtenção de palitos constituídos de resina composta e dentina, com área de seção transversal de aproximadamente 0,81 $mm^2$ (Figuras 4.8A a 4.8D).

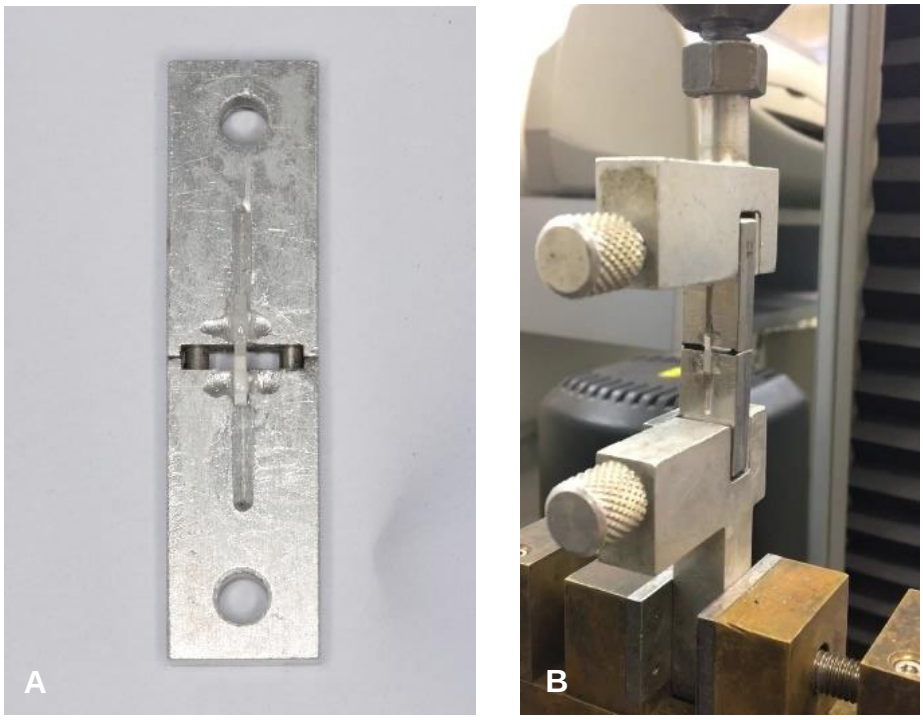
Figura 4.8 - A e B: Seccionamento do conjunto espécime dentário-resina composta, perpendicular à interface adesiva, no sentindo vestíbulo-lingual; C: Seccionamento no sentido mésio-distal; D: Obtenção de palitos com área de seção transversal de aproximadamente 0,81 $mm^2$




Fonte: O autor

Os palitos obtidos, para este estudo, de cada dente, foram individualmente fixados com um adesivo à base de cianocrilato, pelas extremidades, a um "*Jig* de Geraldeli", dispositivo específico para testes de microtração, e levados a uma máquina de testes universal Instron 5942 (Instron Industrial Products, Grove City/PA - EUA) (Figuras 4.9A e 4.9B). Foram, então, testados sob força de tração (célula de carga de 50 kgf) perpendicular à interface adesiva, a uma velocidade de 0,5 mm/min, até sua falha.

Figura 4.9 - A: Fixação de um palito pelas extremidades a um “Jig de Geraldeli”; B: Adaptação do dispositivo contendo o palito em máquina de testes universal Instron 5942, para teste sob força de tração (célula de carga de 50 kgf) perpendicular à interface adesiva, a uma velocidade de 0,5 mm/min




Fonte: O autor

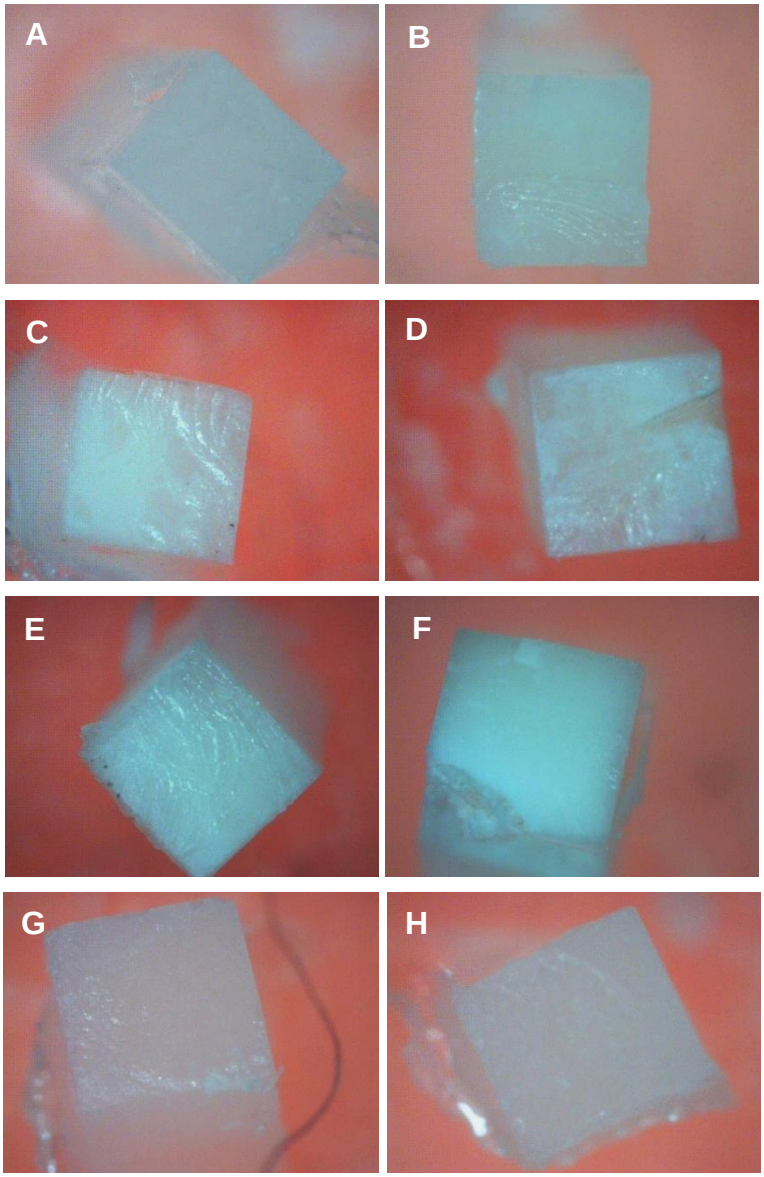
A tensão necessária para causar ruptura dos espécimes foi determinada pela razão entre a carga (kgf) no momento da fratura e a área da seção transversal do espécime em $cm^2$. Os valores obtidos foram convertidos em MPa.

Após a fratura, os palitos foram removidos do dispositivo de ensaio utilizando-se uma lâmina de bisturi nº 12. As superfícies fraturadas de ambos os segmentos foram analisadas com o auxílio de um microscópio digital (Dino-Lite Digital Microscope®; AnMo Electronics Corp., New Taipei City/San-Chung District - Taiwan) (Figura 4.10), com 50x de aumento, para determinação do padrão de fratura (adesiva-A, mista-M, coesiva em dentina-CD, coesiva em resina-CR) (Figuras 4.11A a 4.11H).

Figura 4.10 - Microscópio digital utilizado para análise das superfícies fraturadas de ambos os segmentos de cada palito testado

Fonte: O autor

Figura 4.11 - Aspecto das superfícies de cada um dos segmentos de cada palito testado, em função dos possíveis padrões de fratura - A e B: falha adesiva; C e D: falha mista; E e F: falha coesiva em dentina; G e H: falha coesiva em resina

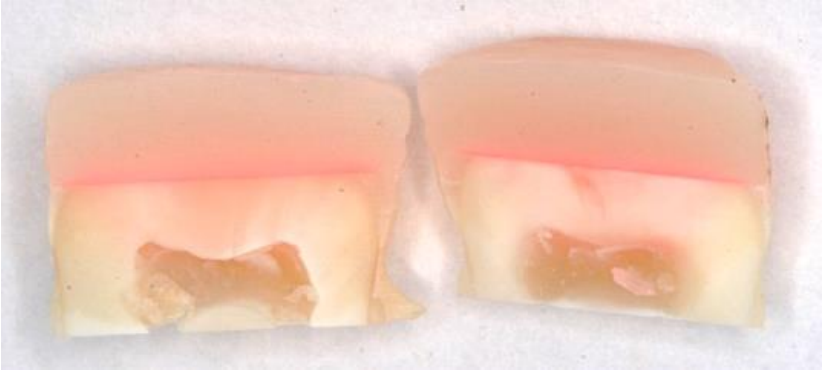



Fonte: O autor

## 4.6 AVALIAÇÃO EM MCVL

Um dente extra para cada grupo foi tratado exatamente como os outros, mas o corante fluorescente rodamina B foi previamente adicionado (0,16 mg/mL; D'Alpino et al., 2006a; D'Alpino et al., 2006b) ao sistema adesivo para permitir a avaliação qualitativa da interface adesiva. Tais dentes foram seccionados apenas mésio-distalmente (Figura 4.12): ambas as metades foram avaliadas por meio de MCVL (imagens com 40x de aumento; Zeiss LSM 780-NLO; Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena - Germany).

Figura 4.12 - Representação do dente extra de cada grupo, tratado exatamente como os outros, mas com o sistema adesivo previamente marcado pela adição do corante fluorescente rodamina B (0,16 mg/mL) e seccionado apenas mésio-distalmente, para avaliação qualitativa da interface adesiva por meio de MCVL



Fonte: O autor

## 4.7 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

Quanto à variável de resposta quantitativa, os testes de Análise de Variância a 2 critérios e de Tukey foram aplicados, com nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi o SigmaPlot 13 (Systat Software, Inc., San Jose/CA - EUA).

Quanto à variável de resposta qualitativa, com base em observação criteriosa das imagens obtidas por meio de MCVL, descreveram-se comparativamente as

possíveis peculiaridades da camada híbrida e dos *tags* formados para cada grupo experimental.

# 5 RESULTADOS

Analisando-se os dados obtidos pôde-se observar que, diferentemente da variável aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (p=0,359), a variável condição do substrato dentinário exerceu influência significante sobre os resultados (p<0,001). Ademais, não houve interação entre elas (p=0,856).

Os valores médios de RU (MPa±dp) do conjunto sistema adesivo-resina composta à dentina em função da condição desse substrato (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado) e da aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%), são descritos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Valores médios±desvio padrão de resistência de união (MPa) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina em função da condição desse substrato (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado) e da aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%)*

| | **C** | **P** | **CHX** |
|---|---|---|---|
| **N** | $46,2±16,0^{Aa}$ | $49,6±15,7^{Aa}$ | $47,1±9,2^{Aa}$ |
| **E** | $26,7±6,1^{Ba}$ | $35,0±11,2^{Ba}$ | $34,8±10,6^{Ba}$ |
| **EA** | $33,3±6,7^{Ba}$ | $34,3±6,5^{Ba}$ | $36,7±9,3^{Ba}$ |

*Diferentes letras maiúsculas indicam diferença estatisticamente significante (p<0,05) em cada coluna para a variável substrato dentinário (N, E, EA). Diferentes letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significante (p<0,05) aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C, P, CHX)

Fonte: O autor

Há que se apontar, pois, que os valores de RU ao substrato erodido e ao erodido-abrasionado, equivalentes entre si, foram sempre inferiores àqueles ao substrato normal, independentemente da aplicação, ou não, de qualquer um dos géis para prevenção/controle do desgaste.

Quanto à determinação do padrão de fratura dos palitos testados, pôde-se observar que as falhas adesivas e mistas foram predominantes em relação às coesivas, independentemente se em dentina ou em resina (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 **-** Percentual (%) de falhas do tipo adesiva (A), mista (M), coesiva em dentina (CD) ou coesiva em resina (CR) em função em função da condição desse substrato (N: normal; E: erodido; EA: erodido-abrasionado) e da aplicação de géis para prevenção/controle do desgaste erosivo (C: controle/sem aplicação; P: placebo/sem princípio ativo; CHX: digluconato de clorexidina a 0,12%)

| **Condição experimental** | **Percentual de falhas (%)** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **A** | **M** | **CD** | **CR** |
| **N.C** | 68,3 | 21,9 | 9,9 | 0,0 |
| **N.P** | 75,7 | 10,8 | 13,5 | 0,0 |
| **N.CHX** | 63,4 | 26,8 | 7,3 | 2,4 |
| **E.C** | 33,3 | 66,7 | 0,0 | 0,0 |
| **E.P** | 50,0 | 47,8 | 2,2 | 0,0 |
| **.CHX** | 45,0 | 55,0 | 0,0 | 0,0 |
| **EA.C** | 78,1 | 22,0 | 0,0 | 0,0 |
| **EA.P** | 57,8 | 37,8 | 4,4 | 0,0 |
| **EA.CHX** | 76,9 | 23,1 | 0,0 | 0,0 |

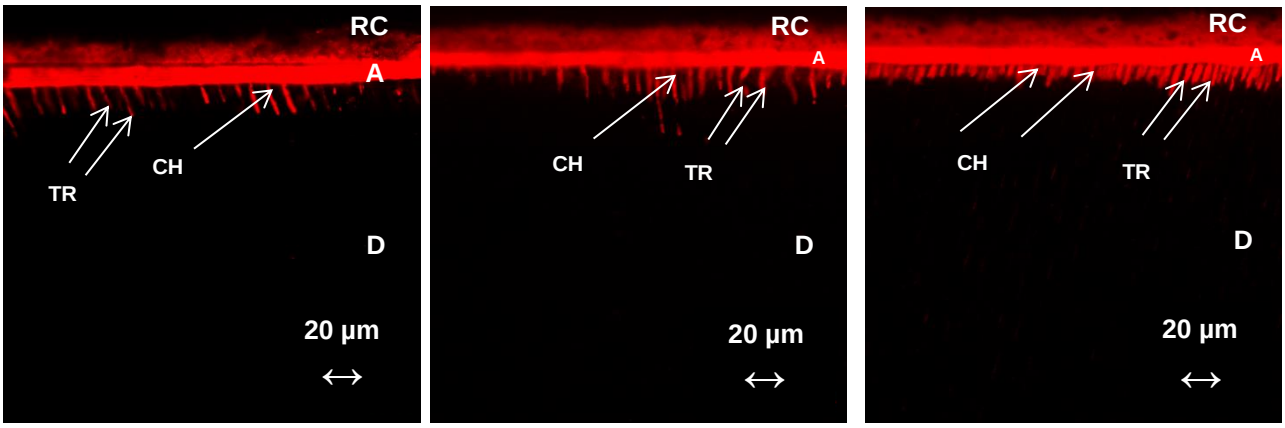
Fonte: O autor

Qualitativamente, analisando-se as interfaces adesivas das superfícies seccionadas das metades vestibular e lingual do espécime, de cada grupo, hibridizado pelo sistema adesivo marcado com rodamina B, nota-se que a presença de *tags* resinosos se manifesta em maior número e comprimento nos substratos submetidos a desafio erosivo inicial, ou seja, o erodido e o erodido-abrasionado, independentemente da aplicação de qualquer estratégia para controle da progressão do desgaste. Dentre eles, para o substrato erodido, há uma identificável camada escura subjacente à de adesivo propriamente dito, entre os *tags* resinosos, representação da menor concentração de material marcado por rodamina B. Para o substrato erodido-abrasionado, verifica-se camada híbrida devidamente expressa por anuviado vermelho subjacente à camada de adesivo, mais e menos espessa, respectivamente, que a estabelecida no substrato normal e erodido (Figuras 5.1 a 5.9).

Figura 5.1 - Imagem de MCVL de interface adesiva estabelecida em substrato normal (N) sem aplicação de gel (C: controle)

Figura 5.2 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato normal (N) com aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P)

Figura 5.3 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato normal (N) com aplicação de gel com CHX a 0,12% (CHX)



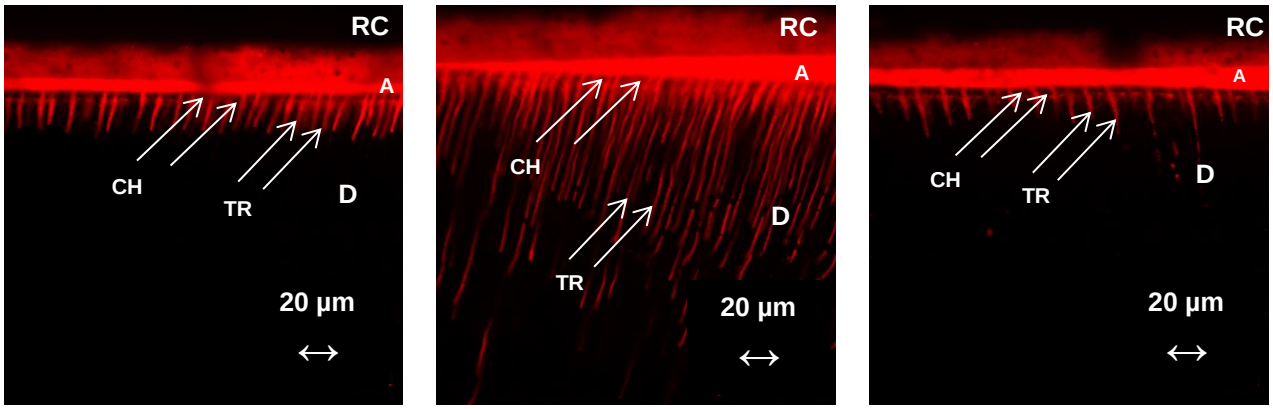

Fonte: O autor

Legenda: RC = resina composta; A = adesivo; CH = camada híbrida; TR = *tags* resinosos; D=dentina.

Figura 5.4 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido (E) sem aplicação de gel (C: controle)

Figura 5.5 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido (E) com aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P)

Figura 5.6 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido (E) com aplicação de gel com CHX a 0,12% (CHX)



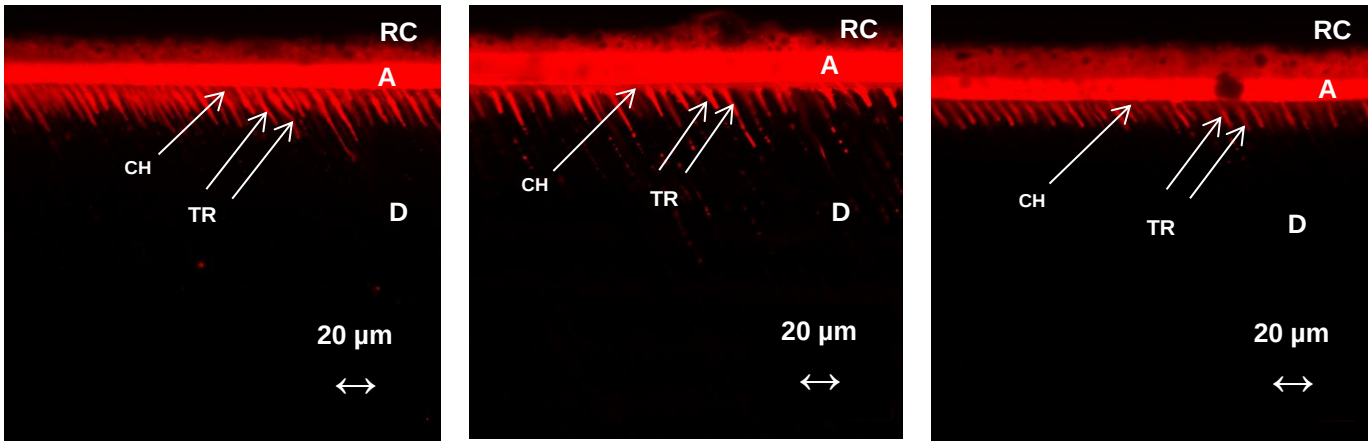

Fonte: O autor

Legenda: RC = resina composta; A = adesivo; CH = camada híbrida; TR = *tags* resinosos; D=dentina.

Figura 5.7 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido-abrasionado (EA) sem aplicação de gel (C: controle)

Figura 5.8 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido-abrasionado (EA) com aplicação de gel placebo/sem princípio ativo (P)

Figura 5.9 - Imagem de MCVL da interface adesiva estabelecida em substrato erodido-abrasionado (EA) com aplicação de gel com CHX a 0,12% (CHX)




Fonte: O autor

Legenda: RC = resina composta; A = adesivo; CH = camada híbrida; TR = *tags* resinosos; D=dentina.

# 6 DISCUSSÃO

A condução de estudos concernentes ao tratamento restaurador/reabilitador do desgaste dentário pode ser considerada sobremaneira necessária e relevante por ocasião de sua crescente prevalência na população adulta: desde a mais jovem, na faixa dos 20 anos de idade (Brusius et al., 2018; Heikkinen et al., 2018; Jaeggi; Lussi, 2006; Van't Spijker et al., 2009), até a mais idosa, naquela dos 70 anos de vida (Van't Spijker et al., 2009; Bachanek et al., 2016; Brusius et al., 2018). Para esta última, parece ser de especial valia, visto que a evolução de um processo degenerativo dessa natureza sofre influência do tempo em que os múltiplos estímulos atuam dinamicamente sobre os dentes (Bartlett; Smith, 2000; Mair, 2000; Meurman; Sorvari, 2000).

Dentre tais estímulos, aqueles relacionados à erosão dentária frequentemente derivam do contato dos dentes com ácido de fonte exógena, proveniente da dieta, constituída da ingesta contumaz, por exemplo, de bebidas carbonatadas (al-Dlaigan et al., 2001; Amaechi; Higham, 2001; Tahmassebi et al., 2006), como os refrigerantes à base de cola (Larsen; Nyvad, 1999; Lussi et al., 1993, 2004; Meurman; Frank, 1991; West et al., 2001). Esse tipo de refrigerante, apesar de apresentar capacidade tampão inferior à apresentada por sucos de frutas e conter, principalmente, ácido fosfórico, potencialmente menos erosivo que o ácido cítrico, apresenta, além da baixa concentração de íons cálcio, fosfato e fluoretos, um dos menores valores de pH dentre as bebidas ácidas (Larsen; Richards, 2002; West et al., 2001). Favorece, pois, o amolecimento superficial e a potencial perda tecidual, por desmineralização, do esmalte, processo que avança ciclicamente, até a consequente exposição da dentina subjacente (Koulourides et al., 1968; Schweizer-Hirt et al., 1978; Eisenburger et al., 2000). Esse substrato, então, vulnerável ao desafio erosivo, desmineraliza-se e apropria-se de aspecto característico: os túbulos dentinários mostram embocaduras abertas e ampliadas, e a zona intertubular, a matriz orgânica exposta (Ganss et al., 2007b, 2014).

Simultaneamente aos agentes classicamente erosivos, atuam na determinação da perda de estrutura dentária fatores mecânicos, relacionados à abrasão, notadamente representados pela escovação com dentifrício abrasivo (Ganss; Lussi, 2014; Shellis; Addy, 2014), na dependência, a propósito, de sua frequência, duração e força, bem como, sobretudo, do dentifrício empregado (Addy; Hunter, 2003; Ganss et al., 2007a, 2009).

O esmalte amolecido, é, nessa perspectiva, mais suscetível ao desgaste mecânico (Attin et al., 2004; Ganss; Lussi, 2014; Kato et al., 2009; Magalhães et al., 2008), o que indica que a escovação, após contato dos dentes com substância erosiva, deve ser postergada (Kato et al., 2009). Quanto à dentina desmineralizada, não parece ser tão propensa à abrasão subsequente como o esmalte, já que, como dantes destacado, a trama de colágeno exposta pelo desafio ácido é compactada, mas não removida por forças mecânicas de até 4 N (Ganss et al., 2007b, 2009; Kato et al., 2009; Hannas et al., 2016). Por princípio, as proteases do próprio hospedeiro é que propiciam, por meio da degradação das fibrilas colágenas expostas, a progressão do desgaste erosivo, e erosivo-abrasivo, em dentina (Tjäderhane et al., 1998; Sulkala et al., 2001; Hannas et al., 2007; Magalhães et al., 2008; Kato et al., 2009; Wang et al., 2014; Giacomini et al., 2017).

De qualquer maneira, mormente se somados os efeitos, em longo prazo, da erosão e da abrasão dentárias, pode tornar-se o desgaste deles advindo deveras avançado, e a restauração dos dentes acometidos, com resina composta, imperativa (Jaeggi et al., 2006; Reis et al., 2009). Via de regra, é este o material mais indicado para restabelecimento da função e da estética dos elementos dentários, ou mesmo, nos casos mais incipientes, para a terapia do substrato dentinário que manifeste hipersensibilidade (Davis; Winter 1977; Hemmings et al., 2000; Litonjua et al., 2003; Lussi et al., 2004; Bartlett; Sundaram, 2006; Reis et al., 2009; Dietschi; Argente, 2011).

O sucesso do tratamento, por sua vez, parece limitado à condição desfavorável do substrato dentinário, erodido em particular, ao estabelecimento de interfaces adesivas efetivas e duradouras (Nakajima et al., 1995; Yoshiyama et al., 1995, 1996; Zimmerli et al., 2012). De imediato, a presença da trama colágena da dentina, que não a derivada propriamente de seu condicionamento com ácido fosfórico, relaciona-se a infiltração inadequada dos monômeros resinosos (Zimmerli et al., 2012), e o elevado conteúdo de água prejudica a polimerização do adesivo (Sano et al., 1995; Hashimoto et al., 2003a, 2003c, 2003b; Zimmerli et al., 2012). Com

o passar do tempo, ambos favorecem sua degradação, em função da destruição, por meio da ação das enzimas proteolíticas da dentina, justamente das fibrilas expostas e não completamente impregnadas por adesivo (Sano et al., 1995; Hashimoto et al., 2003a; Mazzoni et al., 2006; Zimmerli et al., 2012).

Relativamente ao substrato EA, por sua vez, não é fatidicamente estudado na seara acima discutida, ainda que seja o panorama que faz jus à condição mais frequentemente encontrada em clínica (Ganss; Lussi, 2014). Em contrapartida, comparativamente ao substrato tão somente erodido, é o panorama considerado promissor quando da avaliação do papel de inibidores de proteases na prevenção/controle da perda de estrutura dentária por desgaste (Kato et al., 2009). Daí a inferência de ter sido mesmo profícuo conduzir o presente trabalho.

Inoportunamente, todavia, ainda que se supusesse que a CHX poderia ensejar, quando aplicada como agente para prevenção/controle do desgaste, substrato dentinário erodido e, pioneiramente, erodido-abrasionado, mais favoráveis ao estabelecimento de interface adesiva, não fora isso o revelado pelos resultados obtidos. Tanto quando da aplicação da CHX, veiculada por um gel, quanto quando da do gel placebo e da não aplicação, foram os valores de RU à dentina erodida similares àqueles à erodido-abrasionada e, ambos, inferiores àqueles à dentina normal. Assente-se que os valores de RU obtidos tenham permitido análise válida do proposto, retratando fidedignamente a qualidade da união resina composta-substrato dentinário, haja vista, sempre, em respeito à análise do padrão de fratura dos palitos testados, a maior frequência de falhas adesivas e/ou mistas, comparada à de coesivas (Carrilho et al., 2007a, 2007b; Komori et al., 2009; Loguercio et al., 2009; Breschi et al., 2010b; Francisconi-dos-Rios et al., 2015b).

Estudos prévios demonstraram que a CHX é capaz de quelar íons metálicos, dos quais depende a atividade das proteases MMPs e CCs (Brackett et al., 2007; Carrilho et al., 2007a; Hebling et al., 2005; Nascimento et al., 2011; Scaffa et al., 2012; Tersariol et al., 2010). Sua porção catiônica liga-se com a aniônica de constituintes do substrato dentinário, tanto mineralizado, quanto desmineralizado (Carrilho et al., 2010; Kim et al., 2010). Entretanto, os cloretos de cálcio ou sódio (Magalhães et al., 2009; Breschi et al., 2018), por exemplo, são capazes de apartar a CHX de ambos os tipos de dentina, revelando que a ligação entre ela e o substrato é apenas eletrostática (Kim et al., 2010).

Ora pode-se conjecturar, num primeiro momento, que a aplicação do gel de CHX a 0,12%, após desafio erosivo inicial, mas previamente à ciclagem de pH, ou à ciclagem de pH entremeada por escovação simulada, tenha sido ineficaz em controlar a progressão do desgaste, determinando, pois, substrato erodido e erodido-abrasionado, respectivamente, com atributos equivalentes aos daqueles em que não se processou tal aplicação, e mesmo em que se processou a do gel placebo. Também o sugeriram Farias-Neto et al. (2018), ainda que tenham utilizado solução de CHX a 2% (não gel a 0,12%), para prevenção, talvez não controle, do desgaste tão-só erosivo, e mesmo como *primer* antiproteolítico constituinte do tratamento adesivo do substrato.

Nesse âmbito, originalmente verificaram Francisconi-dos-Rios et al. (2015a; 2015b) que tal solução não foi capaz de tornar os valores de RU à dentina erodida equivalentes àqueles verificados para a dentina normal, seja imediatamente, seja após envelhecimento (6 ou 12 meses); e mesmo que, a 2%, os conservasse estáveis por até 6 meses, mas não doze. Mais tarde, o uso dessa mesma solução, com mesma finalidade, reduziu os valores de resistência de união à dentina normal e à erodida, mesmo que apenas aqueles à primeira tenham sido negativamente acometidos pelo passar do tempo (Giacomini et al., 2017). Outra vez, por fim, tal uso, agora seguido de lavagem, estabeleceu valores de RU à dentina erodida equivalentes àqueles quando do não uso e inferiores àqueles à dentina normal (Deari et al., 2017).

É importante destacar, porém, que a eficácia dos agentes antiproteolíticos na prevenção/controle da progressão do desgaste erosivo em dentina é comprovadamente associada ao veículo utilizado para seu carreamento (Kato et al., 2010a). A aplicação única de géis contendo inibidores de proteases é mais efetiva que múltiplos bochechos com soluções dos mesmos, sob protocolos similares para determinação do substrato erodido (Magalhães et al., 2009; Kato et al., 2010a; Hannas et al., 2016). Kato et al. (2010a) conseguiram, por sinal, inibir completamente o desgaste erosivo com um gel à base de clorexidina. Mais recentemente, Boteon et al. (2017a) também obtiveram este resultado, ao comparar tal gel com um à base de proantocianidina, agente antiproteolítico e também indutor do estabelecimento de ligações cruzadas entre as fibrilas de colágeno.

Há que se acreditar, então, que a aplicação do gel de CHX, no presente estudo, tenha salvaguardado a matriz colágena tanto da dentina submetida a desafio erosivo, quanto daquela submetida a desafio erosivo-abrasivo. Não deve ter havido,

em ambos os casos, veraz perda tecidual; por presumível, a desmineralização do substrato, mesmo que superficial, e associada a compactação da porção orgânica, na devida ordem, deve ter bastado para minorar sua predisposição à impregnação do sistema adesivo condicione e lave simplificado empregado.

Subsidiam esta conjectura as diferenças encontradas nas imagens de MCVL entre os distintos substratos, independentemente do tratamento recebido quanto ao controle do desgaste. *Tags* resinosos em maior número e comprimento, para o segundo caso, em que se submeteu os espécimes a desafio erosivo inicial, podem ser considerados reflexo da desmineralização, prévia à propiciada pela ciclagem de pH e também pelo próprio condicionamento com ácido fosfórico, que resulta, típica e fundamentalmente, na exposição e ampliação da embocadura dos túbulos dentinários (Meurman et al., 1991). Sobra, então, menor área para entrelaçamento das fibrilas colágenas com o sistema adesivo, ou seja, para formação da camada híbrida, genuína responsável pela adesão ao substrato dentinário (Yoshiyama et al., 1995).

Ademais, uma identificável camada escura subjacente à de adesivo propriamente, entre os *tags* resinosos para o substrato erodido, representação da menor concentração de material marcado por rodamina B, pode ser inferência de que toda a espessura da trama de colágeno da dentina desmineralizada não fora devidamente impregnada pelo sistema adesivo, ou que não tenha se processado, devido à intensa umidade, adequada conversão dos monômeros em polímeros, quadros relacionados à menor predisposição comprovada desse substrato à adesão de materiais resinosos (Cruz et al., 2012; Zimmerli et al., 2012).

Em âmbito intermediário, verifica-se camada híbrida devidamente expressa por anuviado vermelho subjacente à de adesivo propriamente dito para o substrato erodido-abrasionado, o que poderia debater a adequada impregnação dos monômeros resinosos na maior parte da parcela desmineralizada.

De qualquer sorte, ela parece mais e menos espessa, respectivamente, que a estabelecida no substrato normal e erodido, possivelmente assinalando a peculiar compactação da trama colágena superficial, pela escovação, do substrato desmineralizado. Isso não se reflete, entretanto, em valores de RU à dentina erodido-abrasionada distintos daqueles à erodida, em consonância com o fato de a abrasão sobre a dentina erodida não resultar em alteração da conformação histológica de tal substrato (Ganss et al., 2007a).

Há de se salientar, por fim, que ainda que a CHX não tenha favorecido o estabelecimento de interface adesiva nos substratos erodido e erodido-abrasionado, ao mesmo tempo não o prejudicou de modo algum, em equivalência tão só ao veículo utilizado para carreá-la, admitindo sua aplicação como alternativa no controle da progressão do desgaste dentinário, sem adicional prejuízo a possível subsequente restauração de tal comprometimento. A fim de incrementá-lo, como outrora apontado, implementar-se-iam medidas menos ou mais invasivas, para eliminar a camada orgânica (Deari et al., 2017; Augusto et al., 2018), em porção mais superficial da dentina, o que torna os resultados do presente trabalho de certa forma bastante interessantes. O mesmo encerra-se válido no que tange a investigação longitudinal da RU ao substrato dentinário em função dos fatores em estudo (Anexo B), com o intuito de se compreender o papel que exercem na famigerada, e indesejável, degradação das interfaces adesivas.

# 7 CONCLUSÃO

Conclui-se que a aplicação de gel de CHX, para prevenção/controle do desgaste, não tem efeito na resistência de união (RU) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina erodida e erodido-abrasionada, comparada à normal.

Rejeita-se, pois, a hipótese alternativa proposta, já que tal gel não foi capaz de determinar, por meio da preservação/controle do desgaste, substrato erodido, ou erodido-abrasionado, tão favorável à adesão com os materiais resinosos quanto o normal, mesmo que não o tenha desajudado ainda mais.

# REFERÊNCIAS[1]

Abrahamsen TC. The worn dentition--pathognomonic patterns of abrasion and erosion. Int Dent J. 2005;55(4 Suppl 1):268–76.

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.

al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith AJ. Vegetarian children and dental erosion. Int J Paediatr Dent. 2001 May;11(3):184–92.

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

Attin T, Siegel S, Buchalla W, Lennon ÁM, Hannig C, Becker K. Brushing Abrasion of Softened and Remineralised Dentin: An in situ Study. Caries Res. 2004;38(1):62–6.

Augusto M, Torres C, Pucci C, Schlueter N, Borges A. Bond stability of a universal adhesive system to eroded/abraded dentin after deproteinization. Oper Dent. 2018 May;43(3):291–300. doi: 10.2341/16-173-L.

Bachanek T, Hendzel B, Wolańska E, Szybinsky V, Ogonovsky R, Hrynovets V, et al. Prevalence of dental erosion among 18-year-old adolescents in the borderland districts of Lviv (Ukraine) and Lublin (Poland). Ann Agric Environ Med. 2016 Dec 1;25(1):66–70. doi: 10.5604/12321966.1228948

Bartlett DW, Smith BGN. Definition, classification and clinical assessment of attrition, erosion and abrasion of enamel and dentine. In: Addy M, Embery G, Edgar M, Orchadson R. Tooth wear and sensitivity - clinical advances in restorative dentistry. London: Martin Dunitz; 2000. p. 87–93.

Bartlett DW, Sundaram G. An up to 3-year randomized clinical study comparing indirect and direct resin composites used to restore worn posterior teeth. Int J Prosthodont. 2006;19(6):613–7.

Bartlett D, Ganss C, Lussi A. Basic erosive wear examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. Clin Oral Investig. 2008 Mar 29;12 Suppl 1(S1):S65-8. doi: https://doi.org/10.1007/s00784-007-0181-5

[1] De acordo com estilo Vancouver.

Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. J Endod. 1992 Dec;18(12):605–12.

Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. J Endod. 1987 Apr;13(4):147–57.

Boteon AP, Prakki A, Rabelo Buzalaf MA, Rios D, Honorio HM. Effect of different concentrations and application times of proanthocyanidin gels on dentin erosion. Am J Dent. 2017a Apr;30(2):96–100.

Boteon AP, Kato MT, Buzalaf MAR, Prakki A, Wang L, Rios D, et al. Effect of Proanthocyanidin-enriched extracts on the inhibition of wear and degradation of dentin demineralized organic matrix. Arch Oral Biol. 2017b Dec;84:118–24.

Boukpessi T, Menashi S, Camoin L, TenCate JM, Goldberg M, Chaussain-Miller C. The effect of stromelysin-1 (MMP-3) on non-collagenous extracellular matrix proteins of demineralized dentin and the adhesive properties of restorative resins. Biomaterials. 2008 Nov;29(33):4367–73. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.07.035

Brackett MG, Tay FR, Brackett WW, Dib A, Dipp FA, Mai S, et al. In vivo chlorhexidine stabilization of hybrid layers of an acetone-based dentin adhesive. Oper Dent. 2009 Jul-Aug;34(4):379–83. doi: 10.2341/08-103.

Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. Oper Dent. 2007;32(2):107–11.

Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Ellis TH, Stangel I. High resolution SEM evaluation of dentin etched with maleic and citric acid. Dent Mater. 2002 Jan;18(1):26–35.

Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjäderhane L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. Dent Mater. 2018 Jan;34(1):78–96. doi: 10.1016/j.dental.2017.11.005

Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. Dent Mater. 2010a Jun;26(6):571–8. doi: 10.1016/j.dental.2010.02.007

Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. Dent Mater. 2010b Apr;26(4):320–5. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.153

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. Dent Mater. 2008 Jan;24(1):90–101.

Breschi L, Prati C, Gobbi P, Pashley D, Mazzotti G, Teti G, et al. Immunohistochemical analysis of collagen fibrils within the hybrid layer: A FEISEM study. Oper Dent. 2004;29(5):538–46.

Brömme D, Wilson S. Role of cysteine cathepsins in extracellular proteolysis. in: extracellular matrix degradation. In: Parks WC, Merchan R, editors. Extracellular matrix degradation. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 23–51.

Brunton PA, Hussain A. The erosive effect of herbal tea on dental enamel. J Dent. 2001 Nov;29(8):517–20.

Brusius CD, Alves LS, Susin C, Maltz M. Dental erosion among South Brazilian adolescents: a 2.5-year longitudinal study. Community Dent Oral Epidemiol. 2018 Feb;46(1):17–23. doi: 10.1111/cdoe.12322

Buonocore MG. Principles of adhesive retention and adhesive restorative materials. J Am Dent Assoc. 1963 Sep;67(3):382–91.

Buzalaf MAR, Charone S, Tjäderhane L. Role of host-derived proteinases in dentine caries and erosion. Caries Res. 2015;49 Suppl 1:30–7. doi: 10.1159/000380885

Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem ACB. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. J Appl Oral Sci. 2010; Jul-Aug;18(4):316-34.

Buzalaf MAR, Kato MT, Hannas AR. The role of matrix metalloproteinases in dental erosion. Adv Dent Res. 2012 Sep 16;24(2):72–6. doi: 10.1177/0022034512455029

Campos EA de, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC. Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. Braz Oral Res. 2009; Jul-Sep;23(3):340–5.

Carrilho MR, Carvalho RM, Sousa EN, Nicolau J, Breschi L, Mazzoni A, et al. Substantivity of chlorhexidine to human dentin. Dent Mater. 2010 Aug;26(8):779–85. doi: 10.1016/j.dental.2010.04.002

Carrilho MRO, Carvalho RM, De Goes MF, Di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. J Dent Res. 2007a Jan;86(1):90–4.

Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay F, De Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. J Dent Res. 2007b Jun;86(6):529–33.

Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPS) in human caries. J Dent Res. 2006 Jan 11;85(1):22–32.

Comar LP, Almeida C De, Cardoso B, Charone S, Grizzo LT, Buzalaf AR, et al. TiF4 and NaF varnishes as anti-erosive agents on enamel and dentin erosion progression in vitro. J Appl Oral Sci. 2015 Feb;23(1):14–8. doi: 10.1590/1678-775720140124

Cruz JB, Lenzi TL, Tedesco TK, Guglielmi C de AB, Raggio DP. Eroded dentin does not jeopardize the bond strength of adhesive restorative materials. Braz Oral Res. 2012;26(4):306–12. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242012005000009

D’Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Use of fluorescent compounds in assessing bonded resin-based restorations: A literature review. J Dent. 2006; 34(9):623-4.

D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Factors affecting use of fluorescent agents in identification of resin-based polymers. J Adhes Dent. 2006 Oct;8(5):285-92.

Davis WB, Winter PJ. Dietary erosion of adult dentine and enamel. Protection with a fluoride toothpaste. Br Dent J. 1977 Aug 16;143(4):116–9.

Deari S, Wegehaupt FJ, Tauböck TT, Attin T. Influence of different pretreatments on the microtensile bond strength to eroded dentin. J Adhes Dent. 2017;19(2):147–55. doi: 10.3290/j.jad.a38142

Demeule M, Brossard M, Pagé M, Gingras D, Béliveau R. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. Biochim Biophys Acta. 2000 Mar 16;1478(1):51–60.

Dickinson DP. Cysteine peptidases of mammals: their biological roles and potential effects in the oral cavity and other tissues in health and disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2002;13(3):238–75.

Dietschi D, Argente A. A comprehensive and conservative approach for the restoration of abrasion and erosion. Part I: concepts and clinical rationale for early intervention using adhesive techniques. Eur J Esthet Dent. 2011;6(1):20–33.

Eccles JD. Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. Dent Update. 1982 Aug;9(7):373–4, 376–8, 380–1.
Eisenburger M, Hughes J, West NX, Jandt KD, Addy M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid erosion. Caries Res. 2000;34(4):289–94.

Farias-Neto AM, Landmayer K, Liberatti GA, Silva JCV, Aguilera JFO, Wang L, et al. Clorexidina para prevenção/controle do desgaste, ou como parte do tratamento adesivo, na resistência de união à dentina erodida. Braz Oral Res 2018;32(suppl 2). 2018;307.

Francisconi-dos-Rios LF, Casas-Apayco LC, Calabria MP, Francisconi PAS, Borges AFS, Wang L. Role of chlorhexidine in bond strength to artificially eroded dentin over time. J Adhes Dent. 2015b Apr;17(2):133–9. doi: 10.3290/j.jad.a34059

Francisconi-dos-Rios LF, Calabria MP, Casas-Apayco LC, Honório HM, Carrilho MRDO, Pereira JC, et al. Chlorhexidine does not improve but preserves bond strength to eroded dentin. Am J Dent. 2015a Feb;28(1):28–32.

Gamal AY, Kumper RM, Sadek HS, El Destawy MT. Chlorhexidine controlled-release profile after EDTA root surface etching: an in vivo study. J Periodontol. 2011 May;82(5):751–7. doi: 10.1902/jop.2010.100523

Ganss C, Lussi A. Diagnosis of erosive tooth wear. In: Lussi A, Ganns C, editors. Erosive tooth wear. Basel: Karger; 2014. p. 22–31. (Monographs in oral science; Vol. 25).

Ganss C, Klimek J, Starck C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. Arch Oral Biol. 2004 Nov;49(11):931–5.

Ganss C, Lussi A, Schlueter N. The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. In: Lussi A, Ganss C, editors. Erosive tooth wear. Basel: Karger; 2014. p. 99–107. (Monographs in oral science; Vol. 25).

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J. Effects of toothbrushing on eroded dentine. Eur J Oral Sci. 2007a Oct;115(5):390–6.

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

Ganss C, Young A, Lussi A. Tooth wear and erosion: methodological issues in epidemiological and public health research and the future research agenda. Community Dent Health. 2011 Sep;28(3):191–5.

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. doi: 10.1111/j.1600-0722.2009.00617.x

Garbisa S, Sartor L, Biggin S, Salvato B, Benelli R, Albini A. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. Cancer. 2001 Feb 15;91(4):822–32.

Garnero P, Borel O, Byrjalsen I, Ferreras M, Drake FH, McQueney MS, et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. J Biol Chem. 1999 Nov 27;273(48):32347–52.

Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. Clin Diagn Lab Immunol. 1999 May;6(3):437–9.

Giacomini M, Scaffa P, Chaves L, Vidal C, Machado T, Honório H, et al. Role of proteolytic enzyme inhibitors on carious and eroded dentin associated with a universal bonding system. Oper Dent. 2017 Nov;42(6):E188–96. doi: 10.2341/16-178-L

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. Acta Odontol Scand. 2007 Jan 2;65(1):1–13.

Hannas AR, Kato MT, Cardoso C de AB, Magalhães AC, Pereira JC, Tjäderhane L, et al. Preventive effect of toothpastes with MMP inhibitors on human dentine erosion and abrasion in vitro. J Appl Oral Sci. 2016 Feb;24(1):61–6. doi: 10.1590/1678-775720150289

Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. Eur J Oral Sci. 2008 Jan 7;116(1):60–5. doi: 10.1111/j.1600-0722.2007.00513.x

Hara AT, Ando M, Cury JA, Serra MC, González-Cabezas C, Zero DT. Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. Caries Res. 2005 Mar-Apr;39(2):134–8.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2003a Jul 15;66B(1):324–30.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. Biomaterials. 2003b Sep;24(21):3795–803.

Hashimoto M, Ohno H, Yoshida E, Hori M, Sano H, Kaga M, et al. Resin-enamel bonds made with self-etching primers on ground enamel. Eur J Oral Sci. 2003c Oct;111(5):447–53.

Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. J Dent Res. 2005 Aug 11;84(8):741–6.

Heikkinen T, Rusanen J, Sato K, Pesonen P, Harila V, Alvesalo L. Childhood intelligence and early tooth wear patterns. Cranio. 2018 Mar 4;36(2):128–36. doi: 10.1080/08869634.2017.1287551

Hemmings KW, Darbar UR, Vaughan S. Tooth wear treated with direct composite restorations at an increased vertical dimension: results at 30 months. J Prosthet Dent. 2000 Mar;83(3):287–93.

Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci. 1996 Apr;104(2 ( Pt 2)):151–5.

Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. In: Lussi A, editor. Dental erosion: from diagnosis to therapy. Basel: Karger; 2006. p. 44–65. (Monographs in oral science, Vol. 20).

Jaeggi T, Grüninger A, Lussi A. Restorative therapy of erosion. In: Lussi A, editor. Dental erosion: from diagnosis to therapy. Basel: Karger, 2006. p. 200-14. (Monographs in Oral Science; Vol. 20).

Krithikadatta J, Gopikrishna V, Datta M. CRIS Guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): A concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. J Conserv Dent. 2014 Jul;17(4):301-4. doi: 10.4103/0972-0707.136338.

Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Buzalaf MAR. Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ. J Dent Res. 2010a May 3;89(5):468–72.

Kato MT, Bolanho A, Zarella BL, Salo T, Tjäderhane L, Buzalaf MAR. Sodium fluoride inhibits MMP-2 and MMP-9. J Dent Res. 2014 Jan 6;93(1):74–7. doi: 10.1177/0022034513511820

Kato MT, Magalhães AC, Rios D, Hannas AR, Attin T, Buzalaf MAR. Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion. J Appl Oral Sci. 2009 Nov-Dec;17(6):560–4. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S1678-77572009000600004

Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Calabria MP, Magalhães AC, Pereira JC, et al. Impact of protease inhibitors on dentin matrix degradation by collagenase. J Dent Res. 2012 Nov-Dec 28;91(12):1119–23. doi: 10.1177/0022034512455801

Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Oliveira RC, Pereira JC, Tjäderhane L, et al. Effect of Iron on Matrix Metalloproteinase Inhibition and on the Prevention of Dentine Erosion. Caries Res. 2010b;44(3):309–16. doi: 10.1159/000315932

Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, et al. Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. Dent Mater. 2010 Aug;26(8):771–8. doi: 10.1016/j.dental.2010.04.001

Kinney JH, Balooch M, Haupt DL, Marshall SJ, Marshall GW. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. J Dent Res. 1995 May 8;74(5):1179–84.

Kleter GA, Damen JJM, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. J Dent Res. 1994 Sep 8;73(9):1523–9.

Klont B, ten Cate JM. Susceptibility of the collagenous matrix from bovine incisor roots to proteolysis after in vitro lesion formation. Caries Res. 1991;25(1):46–50.

Komori PCP, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, et al. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. Oper Dent. 2009 Mar;34(2):157–65. doi: 10.3341/08-55

Koulourides T, Feagin F, Pigman W. Effect of pH, ionic strength, and cupric ions on the rehardening rate of buffer-softened human enamel. Arch Oral Biol. 1968 Mar;13(3):335–41.

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

Larsen MJ, Richards A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. Caries Res. 2002;36(1):75–80.

Leitune VCB, Portella FF, Bohn PV, Collares FM, Samuel SMW. Influence of chlorhexidine application on longitudinal adhesive bond strength in deciduous teeth. Braz Oral Res. 2011 Sep-Oct;25(5):388–92.

Li Z, Yasuda Y, Li W, Bogyo M, Katz N, Gordon RE, et al. Regulation of collagenase activities of human cathepsins by glycosaminoglycans. J Biol Chem. 2004 Feb 13;279(7):5470–9.

Litonjua LA, Andreana S, Bush PJ, Cohen RE. Tooth wear: attrition, erosion, and abrasion. Quintessence Int. 2003 Jun;34(6):435–46.

Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. J Dent Res. 2011 Aug 10;90(8):953–68. doi: 10.1177/0022034510391799

Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. Eur J Oral Sci. 2009 Oct;117(5):587–96. doi: 10.1111/j.1600-0722.2009.00663.x

Loguercio AD, Hass V, Gutierrez MF, Luque-Martinez IV, Szezs A, Stanislawczuk R, et al. Five-year effects of chlorhexidine on the in vitro durability of resin/dentin interfaces. J Adhes Dent. 2016;18(1):35–42. doi: 10.3290/j.jad.a35514

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

Lussi A, Jäggi T, Schärer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. Caries Res. 1993;27(5):387–93.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion – an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. Caries Res. 2011;45(s1):2–12. doi: 10.1159/000325915

Magalhães AC, Rios D, Moino AL, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MAR. Effect of different concentrations of fluoride in dentifrices on dentin erosion subjected or not to abrasion in situ/ex vivo. Caries Res. 2008;42(2):112–6. doi: 10.1159/000117807

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MAR. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. J Dent. 2009 Dec;37(12):994–8. doi: 10.1016/j.jdent.2009.08.007

Mair LH. Wear in the mouth: the tribiological dimension. In: Addy M, Embery G, Edgar M, Orchardson R. Tooth wear and sensitivity: clinical advances in restorative dentistry. London: Martin Dunitz; 2000. p. 181–8.

Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. Arch Oral Biol. 2000 Sep;45(9):757–65.

Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GAM, Papa S, Mazzotti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. J Dent Res. 2007 May 20;86(5):436–40.

Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Ruggeri A, et al. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. J Dent. 2011 Mar;39(3):231–7. doi: 10.1016/j.jdent.2011.01.001

Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. Biomaterials. 2006 Sep;27(25):4470–6.

Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. Eur J Oral Sci. 1996 Apr;104(2 ( Pt 2)):199–206.

Meurman JH, Drysdale T, Frank RM. Experimental erosion of dentin. Scand J Dent Res. 1991 Dec;99(6):457–62.

Meurman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. Caries Res. 1991;25(2):81–7.

Meurman JH, Sorvari R. Interplay of erosion, attrition and abrasion in tooth wear and possible approaches to prevention. In: Addy M, Embery G, Edgar M, Orchardson R. Tooth wear and sensitivity: clinical advances in restorative dentistry. London: Martin Dunitz; 2000. p. 171–80.

Miguez PA, Pereira PNR, Atsawasuwan P, Yamauchi M. Collagen cross-linking and ultimate tensile strength in dentin. J Dent Res. 2004 Oct 6;83(10):807–10. doi: 10.1177/154405910408301014

Mobarak E. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries–affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. Oper Dent. 2011 Nov-Dec;36(6):649–60. doi: 10.2341/11-018-L

Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP inhibitors on dentin stability: a systematic review and meta-analysis. J Dent Res. 2014 Aug 16;93(8):733–43. doi: 10.1177/0022034514538046

Moss SJ. Dental erosion. Int Dent J. 1998 Dec;48(6):529–39.

Nakabayashi N. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence; 1998.

Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. Quintessence Int. 1992 Feb;23(2):135–41.

Nakajima M, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Yoshiyama M, Ebisu S, et al. Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. J Dent Res. 1995 Oct 8;74(10):1679–88.

Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldeli S, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, et al. Cysteine cathepsins in human carious dentin. J Dent Res. 2011 Apr 19;90(4):506–11. doi: 10.1177/0022034510391906

Oginni O, Olusile AO. The prevalence, aetiology and clinical appearance of tooth wear: the Nigerian experience. Int Dent J. 2002 Aug;52(4):268–72.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. J Dent. 1997 Sep;25(5):355–72.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. J Dent Res. 2004 Mar 6;83(3):216–21.

Perdigão J. New developments in dental adhesion. Dent Clin North Am. 2007 Apr ;51(2): 333–57.

Piotrowski BT, Gillette WB, Hancock EB. Examining the prevalence and characteristics of abfractionlike cervical lesions in a population of U.S. veterans. J Am Dent Assoc. 2001 Dec;132(12):1694-701; quiz 1726-7.

Prati C, Montebugnoli L, Suppa P, Valdrè G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. J Periodontol. 2003 Apr;74(4):428–36.

Reis A, Moura SK, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Andrade AM, Grande RHM, et al. Durability of enamel bonding using one-step self-etch systems on ground and unground enamel. Oper Dent. 2009 Mar;34(2):181–91.

Ricci HA, Sanabe ME, Costa CA de S, Hebling J. Effect of chlorhexidine on bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems to dentin of primary and permanent teeth. Am J Dent. 2010a Jun;23(3):128–32.

Ricci HA, Sanabe ME, De Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. Eur J Oral Sci. 2010b Jul 12;118(4):411–6. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00754.x

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. Dent Mater. 1994 Jul;10(4):236–40.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. Oper Dent. 1995;20(1):18–25.

Sartor L, Pezzato E, Garbisa S. (-)Epigallocatechin-3-gallate inhibits leukocyte elastase: potential of the phyto-factor in hindering inflammation, emphysema, and invasion. J Leukoc Biol. 2002 Jan;71(1):73–9.

Scaffa PMC, Breschi L, Mazzoni A, Vidal C de MP, Curci R, Apolonio F, et al. Co-distribution of cysteine cathepsins and matrix metalloproteases in human dentin. Arch Oral Biol. 2017 Feb 1;74:101–7.

Scaffa PMC, Vidal CMP, Barros N, Gesteira TF, Carmona AK, Breschi L, et al. Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. J Dent Res. 2012 Apr 19;91(4):420–5. doi: 10.1177/0022034511435329

Schweizer-Hirt CM, Schait A, Schmid R, Imfeld T, Lutz F, Mühlemann HR. [Erosion and abrasion of the dental enamel. Experimental study]. SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd. 1978 May;88(5):497–529.

Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. In: Lussi A, Ganss C, editors. Erosive tooth wear. Basel: Karger; 2014. p. 32–45. (Monographs in oral science, Vol. 25).

Siqueira FSF, Cardenas AM, Ocampo JB, Hass V, Bandeca MC, Gomes JC, et al. Bonding performance of universal adhesives to eroded dentin. J Adhes Dent. 2018;20(2):121–32.

Smith BG. Toothwear: aetiology and diagnosis. Dent Update. 1989 Jun;16(5):204–12.

Spreafico RC. Composite resin rehabilitation of eroded dentition in a bulimic patient: a case report. Eur J Esthet Dent. 2010 Spring;5(1):28–48.

Stanley A, Wilson M, Newman HN. The in vitro effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. J Clin Periodontol. 1989 Apr;16(4):259–64.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. Arch Oral Biol. 2007 Feb;52(2):121–7.

Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, et al. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. J Dent Res. 2001 Jun 8;80(6):1545–9.

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon MEJ. Soft drinks and dental health: A review of the current literature. J Dent. 2006 Jan;34(1):2–11.

Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkkönen V, Martins MT, et al. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. J Endod. 2010 Mar;36(3):475–81. doi: 10.1016/j.joen.2009

Tjäderhane L, Buzalaf MAR, Carrilho M, Chaussain C. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: The era of “dentin degradomics.” Caries Res. 2015; 49(3):193–208. doi: 10.1159/000363582

Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto V-J, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. J Dent Res. 1998 Aug 8;77(8):1622–9.

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS, Geraldeli S, et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. Dent Mater. 2013 Jan;29(1):116–35. doi: 10.1016/j.dental.2012.08.004

Tjäderhane L, Sulkala M, Sorsa T, Teronen O, Larmas M, Salo T. The effect of MMP inhibitor metastat on fissure caries progression in rats. Ann N Y Acad Sci. 1999 Jun 30;878:686–8.

Turk B, Turk V, Turk D. Structural and functional aspects of papain-like cysteine proteinases and their protein inhibitors. Biol Chem. 1997 Mar-Apr;378(3–4):141–50.

Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. J Dent. 1994 Jun;22(3):141–6.

van Strijp AJP, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. Caries Res. 2003 Jan-Feb;37(1):58–65.

Van’t Spijker A, Rodriguez JM, Kreulen CM, Bronkhorst EM, Bartlett DW, Creugers NHJNHJ. Prevalence of tooth wear in adults. Int J Prosthodont. 2009 Jan-Feb;22(1):35–42.

Vidal CMP, Tjäderhane L, Scaffa PM, Tersariol IL, Pashley D, Nader HB, et al. Abundance of MMPs and cysteine cathepsins in caries-affected dentin. J Dent Res. 2014 Mar 19;93(3):269–74. doi: doi: 10.1177/0022034513516979

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. Circ Res. 2003 May 2;92(8):827–39.

Wang L, Casas-Apayco LC, Hipólito AC, Dreibi VM, Giacomini MC, Bim Júnior O, et al. Effect of simulated intraoral erosion and/or abrasion effects on etch-and-rinse bonding to enamel. Am J Dent. 2014 Feb;27(1):29–34.

West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. Caries Res. 2011;45 Suppl 1(s1):43–52.

West NX, Hughes JA, Addy M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. J Oral Rehabil. 2001 Sep;28(9):860–4.

Wilder-Smith CH, Wilder-Smith P, Kawakami-Wong H, Voronets J, Osann K, Lussi A. Quantification of dental erosions in patients with GERD using optical coherence tomography before and after double-blind, randomized treatment with esomeprazole or placebo. Am J Gastroenterol. 2009 Nov 4;104(11):2788–95. doi: 10.1038/ajg.2009.441

Yamauti M, Hashimoto M, Sano H, Ohno H, Carvalho RM, Kaga M, et al. Degradation of resin-dentin bonds using NaOCl storage. Dent Mater. 2003 Jul;19(5):399–405.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. J Dent Res. 2004 Jun;83(6):454-8. doi: 10.1177/154405910408300604

Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Torii Y, Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Self-etch monomer-calcium salt deposition on dentin. J Dent Res. 2011 May;90(5):602-6. doi: 10.1177/0022034510397197.

Yoshiyama M, Carvalho R, Sano H, Horner J, Brewer PD, Pashley DH. Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. Am J Dent. 1995 Dec;8(6):297–302.

Yoshiyama M, Sano H, Ebisu S, Tagami J, Ciucchi B, Carvalho RM, et al. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. J Dent Res. 1996 Jun 20;75(6):1404–13.

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

Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. Oper Dent. 2015 Jan-Feb;40(1):80–6. doi: 10.2341/13-162-L

Zimmerli B, De Munck J, Lussi A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Long-term bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. Clin Oral Investig. 2012 Oct 8;16(5):1451–61. doi: 10.1007/s00784-011-0650-8

# ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo aprovando a condução do presente estudo

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Plataforma Brasil

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Resistência de união à dentina erodida e erodida-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste
**Pesquisador:** Luciana Fávaro Francisconi dos Rios
**Área Temática:**
**Versão:** 1
**CAAE:** 90342218.6.0000.0075
**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.701.808

**Apresentação do Projeto:**
O estabelecimento de interfaces adesivas no substrato dentinário erodido, teoricamente pobre em minerais, revestido por matriz orgânica exposta, é pouco promissor. Favorecem-no apenas a asperização ou, quando do uso de adesivos universais, a desproteinização com hipoclorito de sódio. Manter a camada de fibrilas colágenas, por meio do uso de inibidores de proteinases, talvez mesmo que compactada por abrasão, pode ser conveniente, já que desempenha importante papel nos processos de des e remineralização, inclusive contendo a progressão do desgaste erosivo e erosivo-abrasivo, e no estabelecimento de uma camada híbrida propriamente dita. Neste projeto será avaliada a resistência de união do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina, considerando-se como fatores experimentais a condição desse substrato em três níveis (N-normal; E-erodido; EA-erodido-abrasionado), e a aplicação de um gel para prevenção/controle do desgaste erosivo em três níveis (C-controle/sem aplicação; P-placebo/sem princípio ativo; e
CHX-digluconato de clorexidina a 0,12%). Para determinação do substrato normal, a dentina superficial oclusal de terceiros molares será apenas submetida à ação de uma lixa de SiC (#600; 1 min; N); para a do erodido e do erodidoabrasionado, sequencialmente, de pronto, a desafio erosivo inicial (Coca-Cola®; 5 min). Aplicar-se-á sobre ela, então, ou não (controle/sem aplicação), um dos géis: placebo/sem princípio ativo; ou à base de CHX a 0,12%. Aquela de início desmineralizada ainda será submetida a ciclagem de pH (Coca-Cola®; imersões de 5 min, 3x/dia,

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

5 dias), determinando-se, fatidicamente, o substrato erodido (E), ou a ciclagem de pH associada a escovação (escova elétrica/dentifrício sem flúor diluído em água, 2,5 N, 30 s, 2x/dia, após 1º e último desafios ácidos), determinando-se o substrato erodido-abrasionado (EA). Após condicionamento (H3PO4 a 37%; 15 s; lavagem 30 s; secagem com papel absorvente), o adesivo AdperTM Single Bond 2® será aplicado em todos os espécimes e a porção coronária, reconstruída com a resina FiltekTM Z350®. Transcorridas 24h (água destilada/37C), os espécimes serão seccionados em palitos e testados (TBS; 0,5 mm/min). Os valores de RU obtidos serão organizados considerando-se cada dente como unidade experimental e os testes de Análise de Variância a 2 critérios e de Tukey, se necessário, aplicados (=0,05). Um dente extra para cada grupo será tratado exatamente como os outros, mas o corante fluorescente rodamina B será previamente adicionado (0,16 mg/mL) ao sistema adesivo para permitir a avaliação qualitativa da interface adesiva por meio de Microscopia Confocal de Varredura a Laser

**Objetivo da Pesquisa:**

O objetivo deste estudo in vitro é avaliar, o efeito de um gel de CHX, usado para prevenção/controle do desgaste, na resistência de união (RU) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina erodida e erodida-abrasionada, comparada à normal.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os ricos são mínimos pois trata-se de estudo, realizado em laboratório, utilizando-se terceiros molares humanos hígidos extraídos, doados pelo Biobanco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia - USP. Não haverá benefício direto para o "sujeito da pesquisa", sua realização visa avaliar, de imediato, o efeito de um gel de CHX, usado para prevenção/controle do desgaste, na resistência de união (RU) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina erodida e erodidaabrasionada, comparada à normal, uma vez que se tem valorizado, cada vez mais, a busca por estratégias que favoreçam o estabelecimento de interfaces adesivas, já imediatamente, a substratos desfavoráveis à interação com materiais resinosos, via de regra encontrados em clínica. Futuramente o paciente que apresentar risco a tais tipos de desgastes dentários e necessidade de uma restauração do defeito com resina composta, poderá ser beneficiado.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa adequada.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram apresentados: Projeto detalhado, informações básicas do projeto, folha de rosto, termo de doação do Biobanco, Autorizações para uso do lab. de dentística e para uso do microscópio confocal de varredura a LASER(CEFAP). TCLE está dispensado por serem utilizados terceiros molares humanos hígidos, doados pelo Biobanco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia - USP, estando devidamente justificado no projeto.

**Recomendações:**

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

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

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|---|---|---|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1138934.pdf | 24/05/2018 12:17:38 | | Aceito |
| Outros | Duvidas_Termos_Condicoes_uso_Valores_CONFOCAL_CEFAP.pdf | 24/05/2018 10:37:15 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Carta_AutorizacaoUso_LabDentistica_Giovanni.pdf | 24/05/2018 10:36:25 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Autorizacao_Anuencia_uso_Confocal_CEFAP.pdf | 24/05/2018 10:35:54 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Termo_Doacao_Biobanco_Assinado.pdf | 24/05/2018 10:33:35 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |

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

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 2.701.808

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO_DETALHADO_CEP.pdf | 24/05/2018 10:32:21 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Folha de Rosto | folhaDeRosto_Assinada.pdf | 24/05/2018 10:31:36 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |

**Situação do Parecer:**
Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**
Não

SAO PAULO, 08 de Junho de 2018

**Assinado por:**
**Maria Gabriela Haye Biazevic**
**(Coordenador)**

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

ANEXO B – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo aprovando os resultados obtidos pelo desenrolar do projeto originalmente proposto, e as alterações que a ele se fizeram necessárias, bem como anuindo continuidade do trabalho e adaptações primordiais à publicação de todos e cada um deles

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste

**Pesquisador:** Luciana Fávaro Francisconi dos Rios

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 90342218.6.0000.0075

**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.011.529

**Apresentação do Projeto:**

Este projeto de pesquisa foi devidamente avaliado e teve parecer aprovado em 08/06/2018 sob o n°2.701.808. Agora está sendo submetida para avaliação uma emenda assim justificada:

Encaminho ao Comitê de Ética em Pesquisa (Seres Humanos) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo relatório dos resultados obtidos, até o momento, da condução do projeto de pesquisa "Resistência de união à dentina erodida e erodida-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste". Pede-se que se considere a correção gramatical do título supra mencionado para "Resistência de união à dentina erodida e erodidO-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste". Por conseguinte, que o termo "dentina erodida-abrasionada" seja lido "dentina erodidO-abrasionada" sempre que se apresentar. Há de se destacar que o trabalho foi desenvolvido, em seus pormenores metodológicos, à exceção da utilização de um dentifrício fluoretado ao invés do indicado, sem flúor (indisponível no mercado nacional), conforme proposto e respeitando-se o cronograma apresentado. Todavia, originalmente, todos os palitos obtidos para cada grupo experimental seriam testados imediatamente (I), tão logo seccionados os espécimes que a eles dariam origem. Optou-se, no entanto, por se testar imediatamente apenas um terço do total dos palitos obtidos para cada dente e armazenar os demais em saliva artificial, a 37°C, para que sejam testados depois de transcorridos 6 meses (segundo terço) ou 12 meses (terceiro terço) de envelhecimento, períodos correspondentes a 02/01/2019-14/04/2019 e a 02/07/2018-14/10/2018,

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

respectivamente. Por conseguinte, adiciona-se o fator tempo, em três níveis (imediato, 6 meses e 12 meses), ao estudo. Ademais, o espécime extra de cada grupo, avaliado qualitativamente por meio de Microscopia Confocal de Varredura a Laser, foi similarmente armazenado em saliva artificial para ser novamente avaliado após envelhecimento (depois de 6 e 12 meses). Tal estratégia nos permitirá robustecer os resultados obtidos (dados longitudinais de média e relativamente longa duração) e, quiçá, multiplicar as possibilidades de divulgação em eventos científicos e por meio de publicações em revistas especializadas. Salutar ressaltar que, apesar das alterações, devidamente destacadas por negrito, itálico e sublinhado em arquivo denominado "Projeto_Detalhado_Emenda", não são comprometidos nenhum dos aspectos éticos do trabalho, já que o número de dentes humanos utilizados e o fim de cada um deles não se modificam. Solicita-se, que o CEP aprecie, do ponto de vista ético, as alterações reportadas e, por conseguinte, aprove o relatório apresentado e a continuidade da pesquisa. Dê o mesmo, ainda, anuência à apresentação dos resultados obtidos até o momento, sob título apenas gramaticalmente corrigido ("Resistência de união à dentina erodida e erodido-abrasionada em função da aplicação de clorexidina para controle do desgaste"), como dissertação de mestrado de Giovanni Aguirra Liberatti, sob orientação da pesquisadora responsável, a ser depositada até 15 de dezembro do corrente ano. Por derradeiro, pleiteia-se, por meio de emissão de parecer favorável, o entendimento de que os dados obtidos, incluindo-se aqueles resultantes do envelhecimento dos palitos e dos espécimes extra de cada grupo, por 6 e 12 meses, poderão ser utilizados para tratamento estatístico de acordo com objetivos específicos de distintas publicações, bem como de que os títulos dos respectivos trabalhos poderão ser, ainda, traduzidos ou modificados, para se adequarem às normas de revistas especializadas.

**Objetivo da Pesquisa:**

O objetivo deste estudo in vitro é avaliar, o efeito de um gel de CHX, usado para prevenção/controle do desgaste, na resistência de união (RU) do conjunto sistema adesivo condicione e lave simplificado-resina composta à dentina erodida e erodido-abrasionada, comparada à normal.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Não se aplica

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

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 3.011.529

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A emenda esta bem justificada e o relatório de resultados imediatos também.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Não se aplica

**Recomendações:**

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

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

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|---|---|---|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1242211_E1.pdf | 19/10/2018 10:42:28 | | Aceito |
| Outros | Relatorio_ResultImediatos.pdf | 19/10/2018 10:34:10 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO_DETALHADO_EMENDA.pdf | 19/10/2018 10:29:23 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Duvidas_Termos_Condicoes_uso_Valores_CONFOCAL_CEFAP.pdf | 24/05/2018 10:37:15 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Carta_AutorizacaoUso_LabDentistica_Giovanni.pdf | 24/05/2018 10:36:25 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Autorizacao_Anuencia_uso_Confocal_CEFAP.pdf | 24/05/2018 10:35:54 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |
| Outros | Termo_Doacao_Biobanco_Assinado.pdf | 24/05/2018 10:33:35 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |

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

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 3.011.529

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Folha de Rosto | folhaDeRosto_Assinada.pdf | 24/05/2018 10:31:36 | Luciana Fávaro Francisconi dos Rios | Aceito |

**Situação do Parecer:**
Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**
Não

SAO PAULO, 09 de Novembro de 2018

**Assinado por:**
**Maria Gabriela Haye Biazevic**
**(Coordenador(a))**

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