NOÉLIA MARIA DE SOUSA LEAL

**Estudo *in vitro* da influência da tensão na formação de lesões
cervicais não cariosas**

São Paulo

2013

NOÉLIA MARIA DE SOUSA LEAL

**Estudo *in vitro* da influência da tensão na formação de lesões
cervicais não cariosas**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade de São Paulo,
para obter o título de Doutor pelo Programa de
Pós-Graduação em Odontologia - Materiais
Dentários

Orientador: Prof. Dr. Rafael Yagüe Ballester

São Paulo

2013

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

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

Leal, Noélia Maria de Sousa

Estudo *in vitro* da influência da tensão na formação de lesões cervicais não cariosas / Noélia Maria de Sousa Leal; orientador Rafael Yagüe Ballester. -- São Paulo, 2013.

84 p.: il. : tab., fig.; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Materiais Dentários. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original.

1. Lesão cervical não cariosa. 2. Desmineralização dentinária. 3. Esmalte dentário. 4. Dentina. 5. Perda de dente. I. Ballester, Rafael Yagüe. II. Título.

Leal NMS. Estudo *in vitro* da influência da tensão na formação de lesões cervicais não cariosas. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: / /.....

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Aos meus pais, Antur e Adamir,
pelo apoio irrestrito e por sempre acreditarem na minha capacidade.

Aos meus filhos, Antur Neto e Murilo,
pela presença alegre e carinhosa, e pelo alento nos momentos difíceis.

Ao meu esposo Sérgio,
pela paciência, amor e ajuda nos momentos que precisei estar ausente.

À vocês, dedico este trabalho, com todo o meu amor

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Professor Rafael Yagüe Ballester, tenho muitos motivos para agradecer: pelos ensinamentos profissionais e pessoais, pelo incansável e permanente encorajamento, pela confiança em mim depositada, por estar sempre disponível a ajudar, e principalmente pelo exemplo de pessoa humana e íntegra. Minha eterna gratidão por ter proporcionado a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por iluminar meus pensamentos e sempre me conduzir para o caminho correto.

À minha família: pais, filhos, esposo, irmãs, cunhados, avó, sobrinhos, sobrinhas, tios, tias, primos e primas, que sempre estiveram muito presentes na minha trajetória e alegraram minha vida.

À minha co-orientadora, Profa. Eliane Bemerguy, pelas sugestões, orientações e correções realizadas, e principalmente pelo carinho, amizade, serenidade e disponibilidade.

Às coordenadores do Dinter, Profa. Cecy Martins e Profa. Myrian Turbino, pelo incentivo e apoio nos momentos necessários.

Ao Prof. Vitor Arana, pela gentileza em permitir que eu utilizasse o Laboratório de Biologia Oral, e especialmente pela ajuda na interpretação das imagens e nas dificuldades com o manuseio dos equipamentos.

Aos professores do Departamento de Biologia Oral e Biomateriais da FOUSP, em especial aos professores Paulo Capel, Paulo César, Vitor Arana, Antonio Muench, Ígor Medeiros, Walter Miranda, Carlos Francci e Leonardo Filho, que saíram do aconchego do lar a fim de levarem ensinamentos aos alunos do Dinter UFPA/UFPI.

Aos colegas de curso, pela convivência amigável e fraterna e pelo apoio e ajuda nas horas de dificuldades, em especial às queridas amigas Simone, Renata, Luciana e Cláudia, companheiras do Programa de Biomateriais e Biologia Oral.

Aos funcionários da FOUSP, em especial Rosa, Elidamar, Antônio e Fran, por sempre se mostrarem atenciosos e disponíveis a colaborar quando solicitados.

Ao Boleta e à Marta, pela orientação e ajuda na preparação das lâminas histológicas.

Aos professores do Departamento de Morfologia da UFPI, pela colaboração e substituição nos momentos de ausência e pela amizade ao longo dos anos.

Aos colegas de doutorado da FOUSP, em especial ao Lucas, Ana Carolina e Emerson, por sempre poder contar com eles quando foi necessário.

RESUMO

Leal NMS. Estudo *in vitro* da influência da tensão na formação de lesões cervicais não cariosas [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Original.

Embora se aceite que as lesões cervicais não cariosas tenham uma etiologia multifatorial, as contribuições relativas dos vários agentes etiológicos permanecem obscuras. O presente estudo propõe um modelo que simula a formação de lesões não cariosas em laboratório e estuda a influência específica de cada tipo de tensão no dano provocado ao esmalte e/ou à dentina. A face vestibular de incisivos bovinos foi cortada em forma de palito com 18 mm x 3 mm x 3 mm. Cada palito recebeu um entalhe na região cervical da parede voltada para a polpa, com o objetivo de direcionar a concentração de tensões para a junção esmalte-dentina. Os corpos de prova (n=108) protegidos com verniz ácido resistente, exceto numa faixa de 1,5 x 18 mm da superfície vestibular, foram divididos em dois grupos, um imerso em solução de ácido acético pH 4,5 e o outro imerso em água destilada. Cada grupo foi dividido em três subgrupos (n=18), dos quais, dois deles sofreram carregamento estático de 800gf em dobramento, um para provocar tração e outro para compressão na região da junção esmalte-cimento, e o terceiro não foi submetido a carregamento. Após 72h de ensaio os palitos foram lavados, desidratados e embebidos em resina acrílica. Em cada grupo de 18 espécimes, 06 foram cortados no sentido longitudinal e 12 no sentido transversal do palito, obtendo-se lamelas de 0,05 mm. As lamelas foram fotografadas em microscópio de luz, e foi medida a profundidade de perda e/ou desmineralização de dentina e esmalte. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA, seguida pelo teste de Tukey com 5% de significância. Para comparações entre diferentes regiões do mesmo corpo de prova, foi utilizado o teste t pareado. Foi avaliada também a ocorrência de trincas e fraturas. Não foram encontrados danos nas lamelas dos palitos imersos em água destilada. Nos espécimes seccionados transversalmente a profundidade de desmineralização do esmalte sob tração foi de $158 \pm 18 \mu\text{m}$, significativamente maior que a dos demais grupos ($138 \pm 21 \mu\text{m}$ para sem carga e $129 \pm 16 \mu\text{m}$ para compressão). A profundidade de desmineralização e perda de dentina nos palitos submetidos à tração foi

186±23µm, seguidos de 160±20µm nos palitos sem carga e 140±27µm nos palitos sob compressão. Nos cortes longitudinais foram realizadas medidas da profundidade de desmineralização do esmalte em três pontos: na junção esmalte-dentina (E1), a 3,5 mm (E2) e a 7,0 mm (E3) desta junção. A profundidade de desmineralização do esmalte nos espécimes sob tração foi significativamente maior na região cervical (E1) que nas demais regiões. Para os corpos de prova que sofreram compressão, as regiões E1 e E2 não apresentaram diferença significativa entre si, porém a região E3 teve desmineralização significantemente menor às outras. Nos corpos de prova sem tensão só houve diferença significativa entre os dois extremos (E1 e E3). Foram observadas trincas e fraturas no esmalte cervical apenas nos espécimes submetidos à tração. Parece lícito concluir que a tensão influi na ação do ácido sobre os tecidos dentários, sendo que a tração aumenta significativamente os danos e a compressão tende a reduzi-los.

Palavras-Chave: Lesão cervical não cariosa. Tensão. Desmineralização. Esmalte dentário. Dentina.

ABSTRACT

Leal NMS. *In vitro* study of the influence of the tension in the formation of non-carious cervical lesions [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Original.

Although it is accepted that non-carious cervical lesions have a multifactorial etiology, the relative contributions of several etiological agents remain unclear. This study proposes a model which simulates the formation of non-carious lesions in laboratory and studies the specific influence of each kind of tension in the damage caused to the enamel and/or the dentin. The buccal surface of bovine incisor was cut in the stick form measuring 18mm x 3mm x 3mm. Each stick received a groove in the cervical region of the wall facing the pulp aiming to guide the tension concentration to the dentin-enamel junction. The specimens (n=108) protected with resistant acid varnish, except in a 1.5mm x 18mm labial surface range, were divided into two groups, one immersed in acetic acid solution pH 4.5 and the other in distilled water. Each group was divided into three subgroups (n = 18), in which, two of them suffered 800gf static load on folding, one for tensile and the other for compression in the enamel-cement junction region, and the third did not suffer loading. 72h after the trial, the sticks were washed, dehydrated and embedded in acrylic resin. In each group of 18 specimens, 06 were cut in the longitudinal direction and 12 in the transversal one of the stick, getting 0.05mm lamellae. The lamellae were photographed in light microscope, and the depth of loss and/or demineralization of enamel and dentin was measured. The data were analyzed by ANOVA variance, followed by the Tukey test with 5% significance. For comparisons between different regions of the same specimen, the paired t test was used. It was also evaluated the occurrence of cracks and fractures. No damages were found in the lamellae sticks immersed in distilled water. In specimens cut transversely, the depth of enamel demineralization under tensile was $158 \pm 18 \mu\text{m}$, significantly higher than the other groups ($138 \pm 21 \mu\text{m}$ for unloaded and $129 \pm 16 \mu\text{m}$ for compression). The depth of demineralization and dentin loss in sticks submitted for tensile was $186 \pm 23 \mu\text{m}$, followed by $160 \pm 20 \mu\text{m}$ for the unloaded sticks and $140 \pm 27 \mu\text{m}$ for the sticks under compression. In the longitudinal cut, measures of the enamel demineralization depth were made in three points: the

enamel-dentin junction (E1), 3.5 mm (E2) and 7.0 mm (E3) of this junction. The enamel demineralization depth in specimens under tensile was significantly higher in the cervical region (E1) than in other regions. For the specimens that suffered compression, the regions E1 and E2 did not show significant difference between themselves, but the E3 region showed demineralization significantly lower than the others. In specimens without tension, there was only significant difference between the two extremes (E1 and E3). Cracks and fractures in the cervical enamel were observed specimens only in the specimens under tensile. It seems reasonable to conclude that tension influences in the acid action on the dental tissues, and that tensile increases significantly the damage and compression tends to reduce them.

Keywords: Non-carious cervical lesion. Tension. Demineralization. Enamel. Dentin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Esquema ilustrativo de formação das lesões cervicais de abfração (2)	20
Figura 4.1 - Delineamento experimental do estudo.....	34
Figura 4.2 - Dente bovino evidenciando os cortes realizados para confecção dos palitos dentais	35
Figura 4.3 - Imagem do corpo de prova após confecção do entalhe, com suas dimensões em milímetros (mm)	36
Figura 4.4 - Imagem da análise por elementos finitos evidenciando a concentração de tensão na face vestibular adjacente ao entalhe	37
Figura 4.5 - Imagem do dispositivo utilizado para confecção dos corpos de prova. A – Visão geral; B – Detalhe da mesa de suporte e apoio do palito ..	38
Figura 4.6 - Imagem do palito com o gancho fixado na extremidade incisal. A – Palito a ser submetido à tensão de compressão; B – Palito a ser submetido à tensão de tração.....	39
Figura 4.7 - Imagem do palito com uma faixa longitudinal central coberta com fita adesiva e demais áreas protegidas com verniz ácido-resistente transparente	40
Figura 4.8 - Dispositivo utilizado para realização do carregamento estático: A — Visão geral; B — Detalhe do interior da caixa plástica.	41
Figura 4.9 - Imagem microscópica da dentina mostrando a realização das medidas da profundidade da perda (Pd) e da desmineralização (Dd) do tecido dentinário.....	46
Figura 4.10 - Imagem microscópica do palito mostrando a realização da medida da profundidade da desmineralização do esmalte (De).....	46
Figura 4.11 - A – Locais das medidas da profundidade da desmineralização. B – direções das medidas da profundidade da desmineralização nos pontos E1 e E2.....	47

Figura 5.1 - Imagens microscópicas de cortes transversais de palitos na região coronal em esmalte (E) e dentina (D), após ensaio: A – corpo de prova do grupo mantido em água; B – corpo de prova do grupo submetido ao ácido. A região desmineralizada do esmalte aparece como uma faixa escura superficial delimitada pelas setas pretas. No esmalte são identificados exemplos de tufos (setas vermelhas) e de trincas ou lamelas (setas verdes)	50
Figura 5.2 - Imagens microscópicas de cortes transversais de palitos na região coronal, após ensaio: A - corpo de prova sob tração; B - corpo de prova sob compressão	51
Figura 5.3 - Imagens microscópicas de cortes transversais de palitos na região da dentina radicular após ensaio: A – corpo de prova do grupo água; B – corpo de prova do grupo ácido.....	53
Figura 5.4 - Imagens microscópicas de cortes longitudinais na face vestibular de palitos após ensaio: A – corpo de prova do grupo água; B – corpo de prova do grupo ácido.....	57
Figura 5.5 - Imagens representativas de cortes longitudinais da região cervical em aumento de 200X. As condições de exposição à água/ácido e tipo de tensão estão expressas nos títulos das colunas e linhas	58
Figura 5.6 - Cortes longitudinais em aumento de 100X; A – sob tração; B – sob compressão; C – sem tensão. As setas pretas indicam microfraturas do esmalte. As setas brancas sugerem tufos do esmalte	59
Figura 5.7 - Imagens microscópicas da região cervical de corpos de prova submetidos à tração, evidenciado microfraturas do esmalte; A, B, C – corpos de prova com aumento de 200X; D – corpo de prova com aumento de 100X	60
Figura 5.8 - Imagens microscópicas de cortes longitudinais em dentina na face vestibular de palitos após ensaio: A – corpo de prova do grupo água; B – corpo de prova do grupo ácido.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo Tukey da profundidade (μm) de desmineralização do esmalte (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos).....	52
Tabela 5.2 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo Tukey da profundidade (μm) de desmineralização da dentina (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos).....	53
Tabela 5.3 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo Tukey da profundidade (μm) de perda da dentina (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos)	54
Tabela 5.4 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey da profundidade (μm) do efeito total na dentina (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos)	55
Tabela 5.5 - Profundidade (μm) de desmineralização do esmalte nos corpos de prova seccionados longitudinalmente. Média, desvio padrão e grupos homogêneos obtidos pelo teste t pareado (para comparação dentro de uma linha, entre colunas – letras latinas) e teste de Tukey (para comparação dentro de uma coluna, entre linhas – letras gregas). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($p < 0,05$) ...	61
Tabela 5.6 - Média, desvio padrão e análise do teste de Tukey da profundidade (μm) de desmineralização da dentina em cortes longitudinais (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos) ..	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AEF	Análise por Elementos Finitos
Dd	Desmineralização da dentina
De	Desmineralização do esmalte
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
JEC	Junção esmalte-cimento
JED	Junção esmalte-dentina
LNC	Lesão não cariosa
LCNC	Lesão cervical não cariosa
mM	Milimolar
Pd	Perda da dentina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 HISTÓRICO DAS LESÕES CERVICAIS NÃO CARIOSAS	18
2.2 HIPÓTESES ETIOLÓGICAS	21
2.3 INFLUÊNCIA DAS TENSÕES NA FORMAÇÃO DAS LCNC	24
2.4 PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DOS TECIDOS DENTÁRIOS	27
3 PROPOSIÇÃO	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	34
4.2 CONFEÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	34
4.3 TESTES BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS	40
4.3.1 Carregamento estático	40
4.3.2 Desafio ácido	42
4.4 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS ENSAIOS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS	42
4.4.1 Microscopia óptica	42
4.4.2 Análise estatística	48
5 RESULTADOS	49
5.1 CORTES TRANSVERSAIS	49
5.1.1 Desmineralização do esmalte	49
5.1.2 Desmineralização da dentina	52
5.1.3 Perda de dentina	54
5.1.4 Efeito total na dentina	55
5.2 CORTES LONGITUDINAIS	56
5.2.1 Desmineralização do esmalte	56
5.2.2 Desmineralização da dentina	62
6 DISCUSSÃO	65
6.1 INFLUÊNCIA DA TENSÃO NO ESMALTE EM MEIO ÁCIDO	66

6.1.1 Fresta na junção amelodentinária	67
6.1.2 Trincas e fraturas do esmalte cervical.....	68
6.1.3 Profundidade de desmineralização do esmalte.....	70
6.2 INFLUÊNCIA DA TENSÃO NA DENTINA EM MEIO ÁCIDO.....	74
7 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

Se por um lado a Odontologia tem proporcionado uma redução na perda de dentes causada por cáries, por outro, a vida mais longa dos dentes tem acarretado um aumento na ocorrência de lesões não cariosas (LNC). Essas lesões são caracterizadas pela perda de tecido dentário, esmalte e/ou dentina, sem a presença de cárie e atribuídas a uma origem multifatorial.

As lesões cervicais não cariosas (LCNC) são definidas como a perda de estrutura dental próximo à junção amelocementária não associada à ação de microorganismos. Essas lesões são geralmente atribuídas ao hábito incorreto de escovação ou à ingestão excessiva de alimentos ácidos (1). Entretanto, lesões em forma de cunha, que muitas vezes se apresentam em dentes isolados ou subgengivalmente, não receberam explicação satisfatória nas etiologias descritas. Lee e Eakle (2) propuseram que essas lesões podem estar relacionadas com forças oclusais excêntricas, as quais produzem flexão da estrutura dental, o que ocasiona tração de um lado e compressão do lado oposto. Esse mecanismo de perda patológica de substância na junção amelocementária foi posteriormente denominado de abfração para diferenciá-lo das outras causas que podem intervir na formação das lesões cervicais não cariosas (3).

Embora os mecanismos de formação das lesões cervicais não cariosas possam atuar de forma independente, a ação concomitante ou subsequente entre esses mecanismos é frequente, sendo que cada um pode atuar com intensidade e duração diferentes, provocando desgastes distintos em tempos diferentes (4).

A confirmação das causas principais de uma determinada lesão não cariosa é bastante complexa, uma vez que as perdas de substância ocorrem ao longo de períodos prolongados, o que não permite assegurar que a causa presente no momento do exame tenha estado presente durante toda a formação da lesão.

A compreensão da etiologia das lesões não cariosas é importante para prevenir futuras lesões e planejar modos de interromper a progressão das já presentes, uma vez que a restauração dessas lesões se torna ineficiente a longo prazo, caso não haja a eliminação do(s) agente(s) causal(is).

Este estudo visa investigar os mecanismos relacionados à formação das lesões cervicais não cariosas através tensão e corrosão, o que poderá ser de grande

valor no processo de construção das bases científicas que permitam entender a etiologia dessa entidade patológica ainda não completamente esclarecida.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO DAS LESÕES CERVICAIS NÃO CARIOSAS

Apesar do crescente interesse pelo estudo das lesões cervicais não cariosas na atualidade, pesquisas antropológicas têm demonstrado que estas lesões sempre existiram. No estudo realizado por Ritter et al. (5) em crânios de indivíduos originários de cinco áreas arqueológicas distintas, as lesões cervicais não cariosas foram encontradas em uma das populações, com uma prevalência de 26%. Neste estudo os autores não encontraram nenhum fator causal que permitisse estabelecer a etiologia das lesões, mas eles enfatizaram que nenhuma das populações pesquisadas utilizava instrumentos de higiene oral semelhantes aos que são conhecidos hoje. Kaidonis (6) concorda com que existem evidências da presença das lesões não cariosas em populações arqueológicas, porém as lesões resultantes de processo de erosão constituem um tipo de desgaste não observado nessas populações, o que sugere se tratar de uma doença moderna.

Em 1907, Miller (apud Palmer (7))¹ relatou que a causa provável de surgimento das lesões não cariosas seria os ácidos fracos, os pós abrasivos grosseiros, ou ambos, auxiliados pela escovação.

Em 1914, Black (apud Palmer (7))² relatou que, embora em alguns casos parecesse que a escovação fosse responsável pela lesão cervical, em outros casos existiam lesões nas quais a escovação certamente não tinha sido usada, o que demonstrava que a lesão não tinha sido produzida pela escovação exagerada.

¹ Miller WD. Experiments and observations on the wasting of tooth tissue variously designated as erosion, abrasion, chemical abrasion, denudations, etc. Dental Cosmos, 1907;XLIV:1-23.

² Black GV. Operative dentistry: the pathology of the hard tissues of the teeth. London. Medico-Dental Publ Co; 1914:39-59,157.

Kornfeld, em 1932 (apud Wood (8))³, afirmou que em todos os dentes que apresentavam erosão cervical existiam facetas de desgaste na superfície triturante do dente em questão, e que a erosão se localizava na região oposta à faceta de desgaste.

Em 1977, Xhonga (9) estudou a presença de desgaste dental em pacientes bruxômanos e não-bruxômanos. Os dados mostraram que a progressão do desgaste dental é mais rápida em pacientes bruxômanos, e a frequência de facetas de desgaste é três vezes maior em pacientes bruxômanos que nos não-bruxômanos, pois esses são submetidos às forças oclusais por maior período de tempo.

Em 1983, McCoy (10) propôs que o bruxismo produzia a maior parte das forças destrutivas sobre a estrutura do dente, e discutiu o equilíbrio oclusal como uma forma de reduzir forças laterais.

Em 1984, Lee e Eakle (2) propuseram que forças oclusais aplicadas excentricamente podem causar a flexão do dente, gerando tensões que são concentradas na região cervical. Essas tensões produzem compressão no lado para o qual o dente está sendo flexionado e tração no lado oposto. Esmalte e dentina apresentam alta resistência à compressão e, sob este tipo de tensão, os danos à estrutura cristalina são mais difíceis de ocorrer. Mas as duas estruturas têm resistência à tração limitada, e este tipo de tensão pode causar ruptura das ligações químicas entre os cristais de hidroxiapatita (Figura 2.1). Quando a união dos cristais é rompida, aumentam os espaços entre os cristais e moléculas provenientes do meio bucal podem penetrar nesta região. Com a recorrência das forças de tração ao longo do tempo, as rupturas podem propagar e a estrutura cristalina iria se tornando cada vez mais suscetível à dissolução química promovida pelos ácidos presentes nos fluidos bucais e também pode ser mais facilmente desgastada pela escovação, mastigação ou hábitos parafuncionais.

³ Kornfeld B. Preliminary report of clinical observations of cervical erosion, a suggested analysis of the cause and the treatment for its relief. *Dental Items of Interest*. 1932; 54:905-9.

Figura 2.1 - Esquema ilustrativo de formação das lesões cervicais de abfração (2)

Em 1991, Grippo (3) propôs o termo abfração, derivado das palavras latinas *ab* ou separação e *fractio* ou fratura, para diferenciá-la das demais lesões cervicais. Segundo o autor, essa perda patológica de estrutura dentária seria devido à flexão e fadiga do esmalte e dentina localizados distantes do ponto de aplicação da carga. O efeito dessas forças atuando durante atividades estáticas (deglutição e apertamento) e cíclicas (mastigação), seria governado pela direção, magnitude, frequência, duração e localização das mesmas e, inevitavelmente estariam presentes todas as vezes que os dentes se contatam. O autor propôs uma classificação das lesões dos tecidos duros do dente em quatro categorias: atrição, abrasão, erosão e abfração. Atrição foi definida como resultado do contato fisiológico dente/dente na mastigação ou nos contatos interproximais; a abrasão seria o desgaste patológico por fricção mecânica, como por exemplo, escovação excessiva, hábitos parafuncionais como segurar pregos com os dentes ou bruxismo; a erosão foi definida como dissolução química das estruturas dentais por substâncias ácidas de origem intrínseca ou extrínseca, como por exemplo, ácido gástrico ou dietas ácidas; e a abfração seria a perda patológica da estrutura dental causada por carregamento biomecânico que produz flexão do dente levando à fadiga do esmalte e dentina em um ponto distante daquele em que a carga é aplicada.

Em 2010, Grippo (11) modificou parcialmente esta classificação: a atrição foi conceituada como o desgaste resultante de contato entre dentes, mesmo em condições não fisiológicas como o bruxismo, a erosão passou a ser definida como a perda devida a uma ação mecânica de um fluido ou partículas sólidas carregadas

por um fluido, e o que antes chamava de erosão passou a ser chamado de corrosão (dissolução química).

Em 2012, Grippo et al. (12) reavaliaram as informações a cerca das lesões cervicais não cariosas e enfatizaram a importância de se utilizar uma terminologia atualizada e que melhore a comunicação com ciências afins, principalmente com a engenharia biomédica. Os autores advogam pelo uso do termo “biocorrosão” como mais apropriado e que deve suplantará o termo “erosão”, pois abrange todas as formas de degradação química, bioquímica e eletroquímica do tecido dentário. Também chamaram a atenção que a designação apropriada de determinada LCNC depende da interação e combinação de três fatores principais: biocorrosão, fricção e tensão, atuando em cada lesão individualmente. Outros fatores, tais como saliva, ação da língua, forma, composição, microestrutura, mobilidade e posição do dente, foram denominados de fatores modificadores.

2.2 HIPÓTESES ETIOLÓGICAS

A etiologia das LCNC's é complexa e não está completamente esclarecida, uma vez que envolve a interação de fatores diversos como a presença de ácidos de origens intrínseca ou extrínseca, mecanismos tribológicos variados e a concentração de tensões, o que leva a controvérsias no modo de explicar o aparecimento de determinada lesão (13).

Existe ainda a dificuldade de se diagnosticar uma determinada LCNC, uma vez que as perdas de substância dentária ocorrem ao longo de períodos muito prolongados, sendo difícil afirmar que a causa presente no momento do exame tenha estado presente durante todo o processo (14-17).

Braem et al. (18) reforçaram que a etiologia das LCNCs é variada e multifatorial. O aumento da ocorrência destas lesões requer mais conhecimento da etiologia do processo. Os autores afirmaram que na etiologia das lesões cervicais, ácidos, processos abrasivos e forças oclusais podem interagir ou atuar

separadamente, e quando os três fatores estão presentes, a incidência das lesões é maior.

Segundo Grippo (4), os mecanismos que contribuem para a formação das lesões cervicais não cariosas podem atuar individualmente ou através de combinações sinérgicas com outros mecanismos, e podem agir simultaneamente, seqüencialmente ou alternativamente, levando à perda de tecidos minerais do dente. Nesse estudo o autor definiu seis tipos diferentes de interação entre os fatores causais.

A relação entre o pH crítico e a dissolução do esmalte dental na formação das lesões não cariosas também tem sido pesquisada. O pH crítico é definido como aquele em que um determinado sólido em contato com uma solução começa a ter uma taxa de dissolução maior que a de precipitação porque a solução já não está saturada em relação a algum dos seus componentes, como por exemplo a hidroxiapatita do esmalte dental. O pH crítico do esmalte e da dentina não tem um valor fixo, pois depende das concentrações de cálcio, fosfato e outros eletrólitos da solução. Caso o pH de uma solução seja menor do que o pH crítico, isto quer dizer que a solução será insaturada e os minerais tendem a se dissolver até que a solução se torne saturada. A saliva e o fluido da placa geralmente são supersaturados em relação ao esmalte, ou seja, seus pH's são maiores que o pH crítico, e por isso os dentes não se dissolvem na saliva nem quando recobertos por placa. No entanto, estes fluidos podem não estar supersaturados em relação a íons individuais como, por exemplo, o cálcio e fosfato (19).

O possível papel da saliva na formação de lesões não cariosas já havia sido considerado anteriormente por outros pesquisadores. Black (14) suspeitava que uma causa das lesões por ele chamadas de erosão poderiam ser as secreções de glândulas salivares.

Zipkin e McLure (20) realizaram um estudo em que compararam a quantidade de citrato presente na saliva de pacientes que haviam sido diagnosticados com erosões com um grupo de pacientes que não apresentavam erosões. Os resultados, apesar de não serem conclusivos, indicaram uma tendência de maior teor de ácido cítrico em pacientes com erosões do que naqueles sem erosão.

Levitch et al. (21) avaliaram o papel da saliva na etiologia das lesões cervicais não cariosas. Os autores verificaram que pacientes com baixo fluxo salivar são cinco vezes mais propensas a apresentarem lesões cervicais do que pacientes com fluxo

normal. Também observaram que pacientes com capacidade tampão reduzida são mais susceptíveis a desenvolver estas lesões. Os autores concluíram que a capacidade da saliva de remineralizar a estrutura do dente tem papel importante no desenvolvimento destas lesões.

Para Khan et al. (16) a hipótese de especificidade local das lesões cervicais é explicada em termos de fisiologia salivar. As superfícies vestibulares dos dentes superiores seriam mais propensas ao ataque porque os dentes tendem a secar durante a respiração e as glândulas salivares labiais menores não têm boa capacidade tampão. As superfícies linguais dos dentes inferiores seriam protegidas pelas secreções das glândulas salivares sublinguais e apenas poucas lesões em forma de cunha (2%) foram encontradas nesta região da boca. Eles concluíram que a hipótese de que as lesões em forma de cunha surgiriam principalmente devido a forças oclusais decorrentes do atrito era insustentável, e que a etiologia primária deveria ser considerada como desmineralização ácida em locais desprotegidos pela saliva, possivelmente envolvendo corrosão sob tensão como mecanismo patogênico e também relacionado à escovação (22, 23).

Hammadeh e Rees (24) compararam a susceptibilidade erosiva do esmalte cervical e oclusal, tendo em vista a natureza mais porosa do esmalte cervical. Este estudo forneceu limitada evidência de diferença na susceptibilidade do esmalte nestas duas regiões e, embora os resultados apresentassem certa variação, ela estava mais relacionada com variação biológica de indivíduo para indivíduo do que variação dentro da estrutura do dente. Os autores consideraram a possibilidade de que a porosidade da região cervical iria diminuindo ao longo do tempo por um processo de maturação pós-erupção. Os autores concluíram que os resultados fortaleceriam a etiologia multifatorial das LCNC.

Tomasik (25) realizou um estudo com o objetivo de analisar a etiologia de LCNC e identificar os fatores de risco mais importantes. Associações entre higiene bucal, consumo de bebidas ácidas, estado do periodonto, mobilidade do dente e etiologia de defeitos em forma de cunha foram revelados. A relação entre o contato excursivo lateral dos dentes, bruxismo e formação de lesões cervicais foi estabelecida, evidenciando uma correlação entre oclusão e patologia cervical.

Wood et al. (8) em uma revisão sobre prevalência, etiologia e tratamento de lesões cervicais não cariosas relataram que estas possuem causa multifatorial, mas ressaltaram que as alterações oclusais estão presentes na maioria dos casos.

Segundo os autores, isso é reforçado pelo fato de que cargas excêntricas produzem tensões de tração potencialmente destrutivas na região cervical dos dentes, diferente do que ocorre com cargas axiais.

2.3 INFLUÊNCIA DAS TENSÕES NA FORMAÇÃO DAS LCNC

Observações clínicas das lesões cervicais em forma de cunha, presentes em um único dente ou em dentes não adjacentes, bem como a presença de lesões sub-gengivais, que não seriam explicadas pela abrasão ou corrosão, levaram vários autores à conclusão que fatores que podem atuar em um único dente, como a flexão dental, poderiam contribuir para a perda de tecido dental na região cervical (2, 3, 9, 18, 26, 27).

Porém essa teoria não é consenso entre os autores, que ressaltam que apesar de estudos clínicos terem demonstrado associações entre lesões de abfração, bruxismo e fatores oclusais, tais como contatos prematuros e facetas de desgaste, essas investigações não confirmam relações causais (28-31).

Michael et al. (29) enfatizaram que, embora se aceite que as LCNCs tenham uma etiologia multifatorial, as contribuições relativas dos vários processos permanecem obscuras. Para os autores, atualmente as causas mais amplamente aceitas destas lesões são abrasão e corrosão, sendo a abfração uma das teorias mais discutidas e polêmicas. Os autores ressaltam que os resultados dos estudos antropológicos, epidemiológicos, experimentais e clínicos sugerem que abfração deve ainda ser considerado um conceito teórico, em vez de um verdadeiro contribuinte para a formação das lesões cervicais não cariosas.

O método de análise de elementos finitos foi utilizado por pesquisadores para avaliar a distribuição de tensões na região cervical do dente. Rees et al. (22) utilizaram esta metodologia para avaliar a distribuição de tensões cervicais em diferentes tipos de dentes superiores foram estudadas por. Os autores encontraram que a concentração de tensões na região cervical de incisivos superiores era sempre maior do que a encontrada em caninos e pré-molares, sendo que os caninos

apresentavam os menores valores. Eles concluíram que este achado fornecia uma explicação biomecânica para a variação na prevalência das lesões cervicais não cariosas, mais comuns em incisivos centrais superiores, que em outros grupos de dentes.

Palamara et al. (32) investigaram os efeitos da carga sobre a localização e magnitude de tensões na região cervical. Cargas pontuais de 100N em diferentes angulações foram aplicadas, e os resultados mostraram uma concentração de tensões próxima a junção cimento-esmalte independente da direção da carga. O carregamento oblíquo apresentou as maiores tensões de tração. Os autores propuseram que o mecanismo de LCNC pode ser em parte devido às mudanças de orientação de tensões de tração, bem como sua magnitude.

Em um estudo que avaliou o efeito da tensão no esmalte dental, Whitehead et al. (33) descreveram um experimento in vitro para investigar o efeito da corrosão sob tensão no esmalte intacto. Os autores encontraram lesões cervicais com características similares às encontradas nas lesões in vivo em 8% dos dentes que receberam carga enquanto imersos na solução ácida. Lesões cervicais não foram encontradas nos dentes que somente permaneceram imersos na solução ácida e sem aplicação de carga. A baixa taxa de lesões produzidas sugeriu que outros fatores ainda não compreendidos deveriam influenciar na iniciação e no desenvolvimento dessa patologia, sendo portanto uma lesão multifatorial.

Palamara et al. (34), através de um estudo in vitro, compararam a perda de estrutura do esmalte dentário em dentes submetidos a desafio ácido com e sem carregamento cíclico, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores observaram que os dentes submetidos a carregamento apresentam maior profundidade e volume de perda de esmalte que os dentes sem carregamento. Nesse experimento a perda de esmalte foi maior na região submetida a tração que na região sob compressão. Também nesse experimento os autores verificaram que a perda volumétrica no terço cervical foi maior que no terço médio do dente.

Lintojua et al. (35) realizaram um estudo no qual submeteram dentes extraídos a carregamento estático. Em um grupo, um dente de cada par foi submetido a carga vertical e simulação de escovação dentária, enquanto o outro dente do par funcionava como grupo controle sendo submetido somente à escovação. No outro grupo, foi usada a mesma metodologia, porém com aplicação de carga oblíqua. Os autores verificaram que os dentes submetidos a carga axial

tiveram perda de estrutura dentária significativamente menor que o grupo controle. No entanto os dentes submetidos a carga não axial não tiveram diferença significativa em relação a seu controle. Os autores concluíram que a aplicação de cargas oclusais não necessariamente desempenham um papel significativo na progressão de desgaste cervical nas lesões de abfração.

Rees e Hammadeh (36) postularam uma alternativa para o mecanismo de aparecimento de lesões cervicais não cariosas onde o esmalte sem apoio dentinário na junção esmalte-dentina (JED) da região cervical seria mais suscetível à fratura e, portanto, responsável pela fase inicial de formação das abfrações. Este estudo, através do método de elementos finitos, investigou o efeito desse tipo de defeito na distribuição de tensões na região cervical vestibular de incisivo central, canino e primeiro pré-molar superiores e comparou com o mesmo grupo de dentes com esmaltes intactos na JED. Neste estudo foram consideradas a anisotropia e a variação do módulo de elasticidade apenas do esmalte, mas não da dentina. Os autores concluíram que essa zona de descontinuidade causou um aumento drástico nos valores de máxima tensão principal, a qual, em muitos casos ultrapassou o valor de resistência à fratura do esmalte.

Hur et al. (37) realizaram um estudo com dentes extraídos que apresentavam LCNC para investigar evidências clínicas de perda do esmalte acima da junção cimento-esmalte. Os dentes foram digitalizados por microtomografia computadorizada e seccionados longitudinalmente. Independente do tipo de dente, forma da lesão ou tamanho da lesão, todas as lesões estavam localizadas abaixo do nível da junção esmalte-cimento (JEC). Os autores não detectaram evidências de fratura de esmalte na margem coronal nas LCNC's como sugere a teoria do mecanismo de abfração.

Alguns pesquisadores analisaram o efeito da tensão na dentina. Dentre eles, Staninec et al. (38), que pesquisaram o efeito do carregamento cíclico em espécimes confeccionados em dentina humana. Os pesquisadores submeteram os corpos de prova à fadiga cíclica em dois ambientes diferentes de pH e mediram a perda de tecido dentinário em locais de alta e baixa tensão. Foi observado que a perda de dentina nas áreas de alta tensão foi maior que nas regiões de baixa tensão, e as perdas foram superiores em pH 6,0 que em pH 7,0. Além disso, os autores verificaram que os espécimes submetidos à tensão de compressão sofreram

maior perda de material que aqueles submetidos à tração. Os autores concluíram que estresse mecânico e baixo pH aceleram a perda de estrutura dentinária.

Mishra et al. (39) avaliaram a profundidade de desmineralização subsuperficial da dentina em três diferentes níveis de pH (4,5; 7; 10), sob tensão de tração e compressão. Neste estudo foram confeccionados corpos de prova formados por dois palitos de dentina de dimensões 10 X 3,45 X 1,45 mm presos à raiz do dente, e em cada par um palito sofreu carregamento e o outro serviu de controle. Os autores observaram que a profundidade média de desmineralização subsuperficial foi maior na superfície sob compressão do que sob tração, em pH 4,5. Desmineralização subsuperficial não foi observada em pH 7,0 ou 10,0. Os autores concluíram que ambos, tensão e baixo pH, estão associados com aumento da desmineralização subsuperficial nos feixes de dentina.

Mishra et al. (40) realizaram trabalho semelhante para avaliar a profundidade de perda da dentina em corpos de prova submetidos à tração e compressão sob carga estática. Os autores encontraram resultados similares à pesquisa anterior, em que a profundidade de perda de dentina foi maior na superfície sob compressão do que sob tração em pH 4,5 (ver a discussão, na página 77). Foi observada perda de dentina em pH 7,0 e 10,0, porém de menor profundidade que no pH 4,5.

2.4 PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DOS TECIDOS DENTÁRIOS

O conhecimento das propriedades físicas dos tecidos que constituem o dente é importante para o entendimento das suas propriedades mecânicas sob aplicação de carregamento estático.

A alta dureza do esmalte dentário deve-se ao seu alto conteúdo inorgânico (97%), que consiste principalmente em cristais de fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita, com quantidades de carbonato, sódio, magnésio, cloreto, potássio e flúor, no meio a 1% de material orgânico de natureza basicamente proteica, e 2% de água. Essa composição faz do esmalte um tecido extremamente friável. Em virtude

disso, a dentina subjacente, um tecido mais resiliente, confere sustentação ao esmalte e reduz a possibilidade de fratura quando uma carga é aplicada (41).

Os cristais de hidroxiapatita têm forma hexagonal, apresentam dimensões de aproximadamente 68nm de comprimento por 26 nm de diâmetro, e estão colados um ao outro por fina camada proteica de cerca de 2 nm de espessura (42).

Os cristais de hidroxiapatita apresentam um padrão altamente organizado de orientação para formar os prismas de esmalte, que constituem a unidade estrutural básica do esmalte. Os prismas são estruturas longitudinais que possuem em média 5 μ m de espessura e estendem-se da junção amelodentinária até a superfície do esmalte (43). Em relação ao seu comprimento, é maior que a própria espessura do esmalte, uma vez que seu curso é sinuoso (44).

Os cristais de hidroxiapatita na região central dos prismas estão orientados paralelos ao eixo longitudinal, ao passo que na periferia dos prismas estão orientados em um ângulo de 45°. A interface entre prismas vizinhos é rica em proteínas e tem uma largura de cerca de 800 a 1000 nm (45).

A orientação dos prismas no interior do esmalte é bastante complexa, pois os mesmos não seguem trajetória retilínea através do esmalte. A despeito de tal complexidade, eles tendem a se manterem enfileirados e arranjados circunferencialmente ao redor do longo eixo do dente. Os prismas em cada fileira dispõem-se em uma direção geralmente perpendicular à superfície da dentina. No esmalte cervical, eles dispõem-se principalmente de modo horizontal, porém alguns prismas desta região inclinam-se em sentido apical (46, 47).

Em decorrência da orientação dos prismas, o esmalte apresenta propriedades mecânicas diferenciadas em relação à direção de aplicação de cargas, caracterizando-se como um material anisotrópico (36, 43, 47).

Atualmente a combinação de microscopia de força atômica com a técnica de nanoindentação tem sido utilizada para medir as propriedades dos tecidos dentários. Utilizando estas técnicas, Habelitz et al. (43) avaliaram as propriedades de dureza e módulo de elasticidade, medidas em regiões do esmalte com diferentes orientações dos prismas, e confirmaram a característica anisotrópica desse tecido. Os valores médios da dureza medida em direção paralela dos prismas ($3,9 \pm 0,3$ GPa ou HV 398 ± 31) foi superior aos valores em direção perpendicular ($3,3 \pm 0,3$ GPa ou HV 337 ± 31). Os valores do módulo de elasticidade foram de $87,5 \pm 2,2$ GPa e $72,2 \pm$

4,5 GPa quando as medidas se realizaram paralela ou perpendicularmente ao eixo dos prismas, respectivamente. Os resultados mostraram, portanto, valores mais elevados nas duas propriedades avaliadas para a direção paralela dos prismas.

Jeng et al. (48), avaliaram as propriedades anisotrópicas do esmalte e observaram que a dureza e o módulo de elasticidade são mais elevados na cabeça dos prismas (5,0 e 102,6 GPa, respectivamente), onde os cristais de hidroxiapatita estão alinhados paralelamente no eixo longitudinal, do que na cauda (4,5 e 97,3 GPa), onde os cristais estão perpendiculares ao eixo longitudinal. Os autores concluíram que propriedades mecânicas do esmalte dependem fortemente da orientação dos cristais de hidroxiapatita dentro de cada prisma de esmalte individualmente.

Neste estudo os autores também verificaram que a dureza e o módulo de elasticidade são mais elevados na superfície do esmalte (4,6 e 97,7 GPa, respectivamente), e reduzem em regiões adjacentes à JED (3,1 e 74,4 GPa). Os autores também mostraram que a taxa de desgaste aumenta exponencialmente com o aumento da profundidade do esmalte.

Resultados semelhantes foram observados por He e Swain (49) que observaram propriedades mecânicas diferentes de acordo com a profundidade do esmalte. Desta forma, os autores encontraram valores de 3,9 GPa para a dureza e 82,7 GPa para o módulo de elasticidade na região superficial do esmalte, e 3,1 e 56,8 GPa para estas duas propriedades próximo à junção amelodentinária.

A dentina é um tecido mineralizado de natureza conjuntiva que constitui a maior parte da estrutura do dente. Apresenta cerca de 70% de material inorgânico, na forma de hidroxiapatita, e o restante da sua composição é constituída por aproximadamente 18% de material orgânico e 12% de água (41). A dentina apresenta no seu interior os túbulos dentinários, que alojam no seu interior o processo de um odontoblasto embebido em líquido tecidual. O diâmetro interno dos túbulos é aproximadamente 2,5 μm próximo à polpa e cerca de 0,8 μm próximo à junção amelodentinária (50, 51). A natureza tubular da dentina confere um grau incomum de permeabilidade a esse tecido duro que pode intensificar um processo patológico (46).

A parede do túbulo dentinário é formado por dentina peritubular (também chamada de dentina intratubular), constituída por uma matriz hipermineralizada (40% mais do que a dentina intertubular), que oferece estrutura e composição

química características (46). Foi demonstrado que a espessura da dentina peritubular próximo à polpa é de 400 nm e perto da junção amelodentinária é de 750 nm (52).

A dentina intertubular consiste em uma rede firmemente entrelaçada de fibrilas de colágeno (medindo entre 50 a 200 nm de diâmetro) orientadas perpendicularmente aos túbulos, na qual os cristais de apatita (em média com 100 nm de comprimento) são depositados com os seus longos eixos paralelos às fibrilas (46).

Kinney et al. (53) estudaram as propriedades mecânicas da dentina peritubular e intertubular em duas regiões: próximo da polpa e próximo da JED. Os estudos evidenciaram que a dureza da dentina peritubular foi independente da localização e variou de 2,23-2,54 GPa. Já a dureza da dentina intertubular é menor que a da dentina peritubular, mas depende da localização. Ela foi maior próximo da JED (0,49-0,52 GPa) do que próximo da polpa (0,12-0,18 GPa). Os valores do módulo de elasticidade foi de 29,8 GPa para a dentina peritubular, e variou de 17,7 a 21,1 GPa para a dentina intertubular. Alguns anos depois, também Kinney et al. (54), ao utilizar a técnica de microscopia de força atômica, encontrou valores médios do módulo de elasticidade de 30 GPa para a dentina peritubular e 15 GPa para a dentina intertubular.

Marshall et al. (55) também estudaram as propriedades mecânicas da dentina peritubular e intratubular. Os autores encontraram que o módulo de elasticidade da dentina peritubular varia entre 28-32 GPa, enquanto que da dentina intertubular varia entre 17-21 GPa. Da mesma forma, Balooch et al. (56) encontraram maior valor do módulo de elasticidade da dentina peritubular (40-50 GPa) quando comparada à dentina intertubular (17-23 GPa).

A dentina, em relação ao esmalte, apresenta um aumento na porção orgânica (colágeno) que contribui para a redução do módulo de elasticidade, e uma diminuição no conteúdo mineral, que está associado com a redução da dureza (41).

Angker e Swain (57) pesquisaram estas propriedades mecânicas dos tecidos dentários e confirmaram maiores módulo de elasticidade (~80 GPa) e dureza (~4 GPa) do esmalte em relação à dentina ($E \sim 20$ GPa e $H \sim 1$ GPa).

Com base na sua composição e orientação dos túbulos dentinários, a dentina também é considerado um tecido estruturalmente anisotrópico (58-61). Estudos

mostram que a dentina é mais rígida na direção perpendicular aos túbulos dentinários (62).

Miyazaki et al. (63) realizaram um estudo para determinar o módulo de elasticidade da dentina nas duas orientações do túbulos dentinários. Os valores do módulo de elasticidade foram de 21,8 GPa quando as medidas se realizaram perpendiculares aos túbulos dentinários e 18,5 GPa quando as medidas foram feitas paralelas ao eixo dos túbulos.

Brauer et al. (64) estudaram as propriedades mecânicas da dentina comparando as faces vestibular e lingual. Os autores observaram que a dentina coronal apresentou módulo de elasticidade e dureza superior no lado lingual, enquanto a dentina radicular apresentou maior dureza e módulo de elasticidade do lado vestibular. Os autores concluíram que a assimetria nas propriedades mecânicas em lados opostas na dentina coronal e radicular sugerem um efeito compensatório, através do qual os dentes resistem às forças de impacto recebidas pela coroa.

Giannini et al. (65) mediram a resistência à tração do esmalte, da dentina e da junção esmalte-dentina através da técnica de microtração. Os autores realizaram as medidas em três regiões da dentina e verificaram que a profundidade da dentina influencia nesta propriedade, pois a dentina superficial apresentou maior resistência à tração (61,6 MPa) que a dentina média (48,7 MPa) e que a dentina profunda (33,9 MPa). Quanto ao esmalte, foi observado que a resistência à tração é maior quando as medidas foram realizadas paralela aos prismas (42,2 MPa) do que quando realizada transversalmente (11,5 MPa). A resistência à tração da JED foi 46,9 MPa, portanto semelhante à da dentina média e do esmalte com orientação paralela dos prismas de esmalte.

A junção esmalte-dentina corresponde a região onde o esmalte se relaciona com a dentina e constitui um nível estrutural decisivo para assegurar a retenção firme do esmalte sobre a dentina. A espessura funcional da JED é bastante controversa entre os autores em virtude da variedade de técnicas utilizadas (55, 66, 67), mas de acordo com Chan et al. (68) é de cerca de 0,5 a 1 μm quando analisada através de microscopia eletrônica de transmissão. O notável sucesso mecânico da JED tem sido atribuído à sua forma ondulada e ao reforço de fibras colágenas, que garantem o imbricamento entre os dois tecidos dentários (69).

Devido às propriedades físicas e às propriedades estruturais peculiares ao esmalte e dentina, esses tecidos reagem diferentemente às tensões. No entanto, a

junção natural destes tecidos permite formar uma unidade sólida composta de materiais que se complementam para a atividade funcional dos dentes. Para resistir ao desgaste e às cargas oclusais, há a necessidade de um material que tenha elevada dureza, como o esmalte. Porém os materiais com estas características tendem a ter um comportamento frágil, apresentando maior probabilidade de fratura na presença de algum defeito. Para compensar esta característica frágil do esmalte, a dentina subjacente, sem exposição ao desgaste, apresenta menor dureza e menor módulo de elasticidade. Assim, os dois materiais unidos formam um material compósito com boa tenacidade à fratura, podendo normalmente suportar as cargas funcionais (70).

3 PROPOSIÇÃO

A proposição deste estudo foi avaliar, através de ensaios laboratoriais biomecânicos e químicos, a influência do carregamento estático nos danos causados no esmalte e na dentina bovina, quando submetidos à tensão de tração e de compressão, como parte de um modelo que simula a formação de lesões cervicais de abfração.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Um total de 108 corpos de prova foram confeccionados e divididos em dois grupos iguais (n=54): um grupo submetido a desafio ácido e um grupo imerso em água destilada. Cada grupo por sua vez foi dividido em três subgrupos (n=18): no primeiro subgrupo a região vestibular cervical do palito foi submetida a tensão de tração, no segundo, a região vestibular cervical foi submetida a tensão de compressão e no terceiro subgrupo os palitos não sofreram carregamento.

A figura 4.1 demonstra o delineamento experimental deste estudo.

Figura 4.1 - Delineamento experimental do estudo

4.2 CONFECÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Nesta pesquisa foram utilizados incisivos bovinos, os quais foram previamente limpos e avaliados com lupa a fim de descartar os que apresentassem trincas e defeitos estruturais. Os dentes foram armazenados em solução de timol

com concentração de 1% a 4°C. Dois dias antes do início do preparo, os dentes foram lavados em água corrente e, a partir de então, armazenados em água destilada a 4° C.

Os dentes foram montados em uma máquina de corte (Isomet) e fixados com cera pegajosa. Foram realizados dois cortes transversais com discos diamantados de dupla face em baixa rotação sob refrigeração, retirando-se os terços apical da raiz e oclusal da coroa, de tal forma que o espécime ficasse com um comprimento de 18 mm, sendo 8 mm de coroa e 10 mm de raiz. A seguir os dentes foram cortados no sentido do longo eixo dental, obtendo-se palitos com medidas de 18,0 mm x 3,0 mm x 3,0 mm, num total de 108 palitos. A figura 4.2 mostra a posição e dimensões dos palitos obtidos a partir dos incisivos bovinos.

Figura 4.2 - Dente bovino evidenciando os cortes realizados para confecção dos palitos dentais

Em seguida foi confeccionado um palito para servir como padrão para a confecção de todos os outros, no qual foi realizado um entalhe cilíndrico transversal de 1,6 mm de diâmetro na parede pulpar da dentina da região cervical, utilizando-se broca cilíndrica (Referência 3101 – KG Sorensen) em alta rotação. A figura 4.3 mostra uma imagem do palito, com as suas dimensões finais.

Figura 4.3 - Imagem do corpo de prova após confecção do entalhe, com suas dimensões em milímetros (mm)

O entalhe realizado na região cervical foi confeccionado com o objetivo de direcionar a concentração das tensões de tração ou compressão para a região cervical da face vestibular, o que ficou comprovado através de uma análise por elementos finitos (AEF) ilustrada na figura 4.4. A superfície vestibular do palito padrão foi desgastada em toda a sua extensão, com broca cilíndrica (Referência 1093 FF – KG Sorensen) em alta rotação, com o objetivo de regularizar e planificar essa superfície, que seria copiada para todos os outros palitos.

Figura 4.4 - Imagem da análise por elementos finitos evidenciando a concentração de tensão na face vestibular adjacente ao entalhe

O palito padrão foi fixado em uma máquina que permitiu fazer a réplica de amostras (Figura 4.5). Assim, todos os palitos usados no experimento foram reproduzidos com as mesmas dimensões e características do palito padrão. Durante a conformação dos palitos garantiu-se que ocorresse um pequeno desgaste do esmalte e da dentina na face vestibular a fim de eliminar vestígios de cimento, já que normalmente no dente bovino tanto o esmalte como a dentina estão recobertos por formações irregulares de cimento. Para obtenção de uma superfície polida na face vestibular dos palitos, o desgaste foi realizado com broca cilíndrica KG Sorensen 1093 FF, e a seguir essa face foi polida com disco de feltro e pasta diamantada (Diamond gloss KG Sorensen).

Figura 4.5 - Imagem do dispositivo utilizado para confecção dos corpos de prova. A – Visão geral; B – Detalhe da mesa de suporte e apoio do palito

Foi realizada uma pequena cavidade na extremidade incisal dos palitos que iriam sofrer carregamento estático, utilizando-se para isso uma broca carbide esférica em alta rotação. Foi colado nessa cavidade um gancho de fio ortodôntico 0,5, em formato de L, usando condicionamento ácido, adesivo dentinário e resina composta. A finalidade foi estabelecer um ponto preciso e pontual para aplicação da carga. Para os palitos que seriam submetidos à tensão de compressão, a extremidade livre do gancho foi fixada voltada para o lado lingual do palito, e para os palitos que sofreriam tensão de tração, o gancho foi fixado com a ponta livre voltada para o lado vestibular (Figura 4.6).

Figura 4.6 - Imagem do palito com o gancho fixado na extremidade incisal. A – Palito a ser submetido à tensão de compressão; B – Palito a ser submetido à tensão de tração

Uma fita adesiva de 1,5 mm de largura e 18 mm de comprimento foi colada na superfície vestibular dos palitos, ocupando uma faixa longitudinal central desta superfície. Foram então aplicadas duas camadas de verniz transparente ácido resistente em todas as superfícies dos palitos. Após 24h de secagem do verniz, a fita adesiva foi retirada, deixando assim uma faixa central na face vestibular dos palitos que seria exposta ao desafio ácido, e as áreas adjacentes ficariam protegidas com o verniz. As regiões laterais protegidas da face vestibular serviriam como referência para a comparação entre as áreas do esmalte e da dentina expostas ou não à solução desmineralizadora (Figura 4.7).

Figura 4.7 - Imagem do palito com uma faixa longitudinal central coberta com fita adesiva e demais áreas protegidas com verniz ácido-resistente transparente

4.3 TESTES BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS

4.3.1 Carregamento estático

Os palitos foram divididos em três grupos ($n=36$), dos quais dois grupos sofreram carregamento estático (um para provocar tração e outro para compressão) e o terceiro grupo não foi submetido a carregamento. Para a realização do carregamento, foi confeccionado um dispositivo com um suporte para 12 pesos, cada um deles constituído por um cano de PVC que permitia o ajuste da carga mediante a colocação de chumbo para caça. Cada cano estava acoplado a duas hastes metálicas nas suas extremidades. As hastes corriam em furos-guias que mantinham o peso em posição, com a haste inferior apoiada na ponta do fio

ortodôntico colado na extremidade do palito, a fim de gerar tensão concentrada na região cervical dos corpos de prova.

A carga aplicada aos palitos foi de 800 gf. Essa carga foi definida em um estudo piloto, e ela corresponde a 2/3 da média de carga de fratura de 12 palitos ensaiados em máquina Kratos.

O dispositivo de carregamento era composto também de uma caixa plástica para a colocação da solução desmineralizadora. Dentro desta caixa existia um suporte para fixação dos palitos, um termostato para conservação da temperatura em 37° Celsius e uma mini-bomba para agitar a solução. O suporte para fixação dos palitos continha um casulo onde os palitos eram engastados nas extremidades opostas aquela em que fora fixado o fio metálico, utilizando-se para isso um parafuso plástico. A figura 4.8 mostra o dispositivo utilizado no carregamento estático.

Figura 4.8 - Dispositivo utilizado para realização do carregamento estático: A — Visão geral; B — Detalhe do interior da caixa plástica

4.3.2 Desafio ácido

Tanto os corpos de prova sem carregamento como os submetidos a carregamento foram imersos em 900 ml de solução desmineralizadora de tampão de acetato contendo 2,2 mM de cloreto de cálcio (CaCl_2), 2,2 mM de fosfato de sódio (NaH_2PO_4), 0,05 M de ácido acético, com pH 4,5 ajustado por hidróxido de potássio (KOH). A solução continha 95 mg/l de timol para evitar o crescimento de microorganismos. O tempo do desafio ácido, determinado no estudo piloto foi de 72 horas.

4.4 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS ENSAIOS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS

4.4.1 Microscopia óptica

Para avaliar os efeitos sobre os tecidos mineralizados, foram preparadas lâminas histológicas dos espécimes impregnados por resina acrílica. Para obter as preparações histológicas seguiu-se a seguinte sequência:

- a) Após o término do ensaio, os palitos foram lavados durante 24 horas em quatro trocas de água destilada, a primeira troca após uma hora de imersão, a segunda após duas horas, a terceira após quatro horas e a última após catorze horas, totalizando assim as 24 horas. O verniz foi então removido das superfícies do palito com um chumaço de algodão embebido em acetona, aplicado delicadamente em sua superfície para evitar desgaste de regiões eventualmente deterioradas.
- b) Em seguida os corpos de prova foram desidratados numa sequência crescente de álcool. Para isso, os palitos foram mergulhados em álcool em

quatro etapas nas seguintes concentrações e tempos: álcool 70° por 24h, álcool 100° por 24h, álcool 100° por 48h e álcool 100° por 56h.

- c) Depois de desidratados, os espécimes foram embutidos em metacrilato de metila, no interior de frascos de vidro. Para a realização desse processo, os palitos foram inicialmente imersos durante três dias em 10 ml de solução contendo 15% de dibutilftalato (ativador da polimerização) e 85% de monômero dimetilmetacrilato (solução A).
- d) A seguir os palitos foram removidos do primeiro frasco com a solução A e foram imersos por mais três dias em um frasco contendo 10 ml de nova solução, constituída da solução A acrescida de 1% de peróxido de benzoíla (iniciador da polimerização).
- e) Por fim, os espécimes foram removidos da solução anterior, foi preparada solução A com 2,5% de peróxido de benzoíla, e os palitos foram imersos em 10 ml desta nova solução durante três dias à temperatura ambiente, em que começou a ocorrer a polimerização. A seguir, os corpos de prova foram colocados em estufa a 37° C, até a polimerização final da resina, ocorrida após dois dias.
- f) Os frascos de vidro foram então quebrados, e os blocos foram montados em máquina para a realização dos cortes das lâminas para microscopia. Os blocos foram seccionados em máquina de corte Isomet, com disco diamantado de dupla face de 0,3 mm de espessura, em rotação de 400 rpm, sob refrigeração.
- g) Em cada grupo de 18 espécimes, 12 foram cortados no sentido transversal do palito e 06 no sentido longitudinal.
- h) Para os cortes transversais, inicialmente o disco diamantado era posicionado na junção amelodentinária do palito, e o mesmo era movido 0,5 mm em direção ao esmalte, e nesse local era realizado o primeiro corte. A seguir avançava-se mais 0,8 mm e o segundo corte era realizado, e assim era obtida uma lamela transversal em esmalte, de 0,5 mm de espessura (o avanço de 0,8 mm tinha por objetivo descontar a espessura de 0,3 mm que o disco desgasta durante o corte). O mesmo procedimento era realizado na dentina, para obtenção de uma lamela em dentina com 0,5 mm de espessura, cortada a 0,5 mm da junção amelodentinária.

- i) Para os cortes longitudinais, o disco de corte era inicialmente posicionado paralelo ao longo eixo do palito, na sua região mediana e aí realizado um corte. A seguir avançava-se o disco 0,8 mm para a direita e um segundo corte era realizado. Retornava-se o disco para a região central, movia-se 0,8 mm para a esquerda e cortava-se outra lamela. Desta forma eram obtidas duas lamelas longitudinais da região central exposta do palito ao ácido, com espessura de 0,5 mm.
- j) Após o corte, uma das superfícies de cada lamela foi lixada e polida em uma lixadeira motorizada com lixas de carbeto de silício de granulação 800, 1000, 1500, 2000, 2500 e 4000. Para este polimento, as lamelas eram seguradas em contato com as lixas através de leve pressão digital. A primeira superfície polida de cada lamela foi então colada com adesivo cianoacrilato, da fábrica Super-craft Ltda, em lâminas de acrílico para microscopia, de dimensões 76 X 26 X 1,5 mm. Após duas horas de espera para polimerização final da cola, a lamínula era presa por uma ventosa de borracha fixada na extremidade de um cabo de madeira e a outra superfície da lamela foi também lixada e polida seguindo a mesma sequência de granulação das lixas. Durante o procedimento de lixamento e polimento, a espessura das lamelas era medida periodicamente com paquímetro digital, e o processo retomado até alcançarem a espessura final de 0,05 mm.

Nas lâminas foram realizadas as seguintes medidas:

- A profundidade da desmineralização em dentina e esmalte, conceituada como a perda de substância mineral do tecido dentário, e identificada nas imagens microscópicas por uma alteração na coloração da dentina (mais clara, ver como exemplo a Figura 4.9 na página 46) ou do esmalte (mais escura, ver como exemplo, a Figura 4.10 na página 46).
- A profundidade da perda de tecido dentário (apenas nas lamelas dos cortes transversais ao longo eixo do palito, pois só nelas existiam pontos de referência). A perda é conceituada como ausência total do tecido dentário, identificada como perda do contorno original.
- A profundidade do efeito total, definido como a soma das duas profundidades anteriores. Como no esmalte não foi detectada perda

de tecido, esta medida coincidiu com a da profundidade de desmineralização.

Foi também avaliado:

- Presença de trinca de esmalte, definida como uma fratura incompleta do esmalte sem perda de estrutura dental, e identificada nas imagens microscópicas como uma linha escura no esmalte, de direção perpendicular à junção esmalte-dentina (ver Figura 5.1, página 50).
- Presença de fratura, visualizada nas imagens microscópicas como uma trinca larga que provoca perda de continuidade do tecido dental (ver exemplo na Figura 5.6-A, página 59).
- Formação de fresta entre esmalte e dentina, visualizada nos cortes longitudinais como uma área clara, vazia, entre o esmalte e a dentina na região cervical (ver Figura 5.5, página 58).

As lâminas foram observadas e fotografadas em 40, 100 e 200 aumentos, em um microscópio de luz Olympus BX 60, equipado com câmera Olympus DP 72. O aumento de 40 foi utilizado para a realização das medidas de perda e/ou desmineralização dentária, e os aumentos de 100 e 200 foram utilizados para a pesquisa de trincas, fraturas e frestas na junção amelo-dentinária (JAD).

Foi utilizado o software Cell F (Olimpus Soft Imaging Solutions GmbH) para a marcação das imagens e mensuração da profundidade da perda e da desmineralização de tecido dentário.

Nas lamelas cortadas transversalmente foram realizadas três medidas: profundidade da perda da dentina, profundidade da desmineralização da dentina e profundidade da desmineralização do esmalte. Em nenhum corpo de prova ocorreu perda de esmalte, por isso essa medida não foi realizada.

A profundidade da perda da dentina (Pd) foi estipulada como sendo a distância entre duas linhas paralelas traçadas, uma rente à superfície dentária vestibular que ficou protegida pelo verniz (linha azul, na Figura 4.9) e outra passando na região central do fundo da cavidade (linha vermelha, na mesma figura). A medida da profundidade da desmineralização da dentina (Dd) foi realizada também através da distância entre duas linhas paralelas, uma traçada rente ao fundo da cavidade formada (linha vermelha) e a outra passando subjacente à região desmineralizada, que apresentava uma coloração mais clara que a dentina sadia (linha verde).

Figura 4.9 - Imagem microscópica da dentina mostrando a realização das medidas da profundidade da perda (Pd) e da desmineralização (Dd) do tecido dentinário

A profundidade da desmineralização do esmalte foi medida da mesma forma, ou seja, através da distância entre duas linhas paralelas traçadas, uma tangente à superfície vestibular do esmalte que ficou protegida pelo verniz (linha azul, na Figura 4.10) e outra passando subjacente à região desmineralizada, que apresentava uma coloração mais escura que o esmalte sadio (linha verde, na mesma figura).

Figura 4.10 - Imagem microscópica do palito mostrando a realização da medida da profundidade da desmineralização do esmalte (De)

Nas lamelas de secções obtidas no sentido longitudinal foram realizadas quatro medidas de profundidade de desmineralização: uma medida em dentina situada apicalmente a uma distância de 0,5 mm do colo (determinado pelo ponto de confluência do esmalte e da dentina na superfície vestibular) (D), e três medidas no esmalte, a primeira na região do colo (E1), a segunda no terço médio da face vestibular do palito, medida a 3,5 mm do colo (E2), e a terceira no terço incisal da face vestibular do palito, medida a 7,0 mm do colo (E3). Os locais de realização das medidas estão ilustrados na figura 4.11.

Figura 4.11 - A – Locais das medidas da profundidade da desmineralização. B – direções das medidas da profundidade da desmineralização nos pontos E1 e E2

4.4.2 Análise estatística

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada utilizando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, para observância da distribuição normal dos resultados. A seguir foi utilizado o teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de TuKey. Para os corpos de prova seccionados longitudinalmente, e nos quais foram realizadas três medidas no mesmo espécime, foi utilizado o teste t pareado (três testes para comparar, em cada um deles, duas médias). O nível de significância adotado foi de 5%. O processamento das tabelas e gráficos, assim como os testes estatísticos foram realizados através do software Prisma.

A análise de variância, o teste de Tukey e o teste t pareado incluíram apenas os resultados obtidos no grupo submetido a desafio ácido, uma vez que todos os valores do grupo água foram iguais a zero, já que nenhum corpo de prova deste grupo sofreu desmineralização.

5 RESULTADOS

5.1 CORTES TRANSVERSAIS

Os resultados relativos à profundidade de perda e/ou desmineralização de dentina e esmalte nos corpos de prova seccionados transversalmente serão apresentados a seguir, através de tabelas e gráficos.

5.1.1 Desmineralização do esmalte

Os corpos de prova do grupo água não apresentaram desmineralização superficial do esmalte, enquanto os espécimes do grupo ácido mostraram área bem delimitada de desmineralização do esmalte. Nos dois grupos, conforme pode ser observado na figura 5.1, os corpos de prova mostraram a presença de trincas, lamelas e tufos na sua estrutura, bem como áreas que aparecem escuras em regiões mais profundas do esmalte, que podem ser atribuídas à direção específica que os prismas assumem nessa região (devido a curvaturas dos prismas de esmalte) ou a processos anteriores sofridos pelo dente na cavidade oral.

Figura 5.1 - Imagens microscópicas de cortes transversais de palitos na região coronal em esmalte (E) e dentina (D), após ensaio: A – corpo de prova do grupo mantido em água; B – corpo de prova do grupo submetido ao ácido. A região desmineralizada do esmalte aparece como uma faixa escura superficial delimitada pelas setas pretas. No esmalte são identificados exemplos de tufos (setas vermelhas) e de trincas ou lamelas (setas verdes)

A figura 5.2 traz imagens do grupo ácido, e evidencia que nos corpos de prova submetidos à tração as trincas existentes podem desencadear fraturas no esmalte. Estas fraturas não foram observadas no grupo sob compressão ou sem carga.

Figura 5.2 - Imagens microscópicas de cortes transversais de palitos na região coronal, após ensaio: A - corpo de prova sob tração; B - corpo de prova sob compressão

A análise de variância das profundidades de desmineralização do esmalte mostrou que existem diferenças significativas ($p=0,0017$) devido ao tipo de tensão aplicada. A tabela 5.1 mostra a média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey (5%) em cada subgrupo.

Tabela 5.1 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo Tukey da profundidade (μm) de desmineralização do esmalte (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos)

Tipo de tensão	Média $\pm$ desvio padrão	Grupos homogêneos pelo Tukey (5%)
Tração	158 $\pm$ 19,7	A
Compressão	129 $\pm$ 16,3	B
Sem tensão	138 $\pm$ 21,3	B

Conforme pode ser observado na tabela 5.1, os espécimes submetidos à tração apresentaram profundidade de desmineralização significativamente maior que os demais, mas os espécimes sem tensão não se diferenciaram significativamente dos submetidos à compressão.

5.1.2 Desmineralização da dentina

Os espécimes do grupo água não sofreram desmineralização superficial detectável, enquanto que os do grupo ácido sempre apresentaram desmineralização do tecido dentinário. A figura 5.3 mostra imagens representativas de palitos dos grupos água e ácido que evidenciam este fato.

Figura 5.3 - Imagens microscópicas de cortes transversais de palitos na região da dentina radicular após ensaio: A – corpo de prova do grupo água; B – corpo de prova do grupo ácido

A análise de variância mostrou que existem diferenças significativas ($p=0,0007$) entre as profundidades de desmineralização da dentina devido ao tipo de tensão aplicada. As médias, desvios padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey (5%) estão apresentados na tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo Tukey da profundidade (μm) de desmineralização da dentina (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p<0,05$) entre os grupos)

Tipo de tensão	Média $\pm$ desvio padrão	Grupos homogêneos pelo Tukey (5%)
Tração	162 $\pm$ 18,7	A
Compressão	126 $\pm$ 25,8	B
Sem tensão	140 $\pm$ 18,0	B

A tabela 5.2 evidencia que a profundidade de desmineralização da dentina nos palitos submetidos à tensão de tração foi significativamente maior que os

demais, mas os espécimes sem tensão não se diferenciaram significativamente dos submetidos à compressão.

5.1.3 Perda de dentina

Os corpos de prova do grupo água não sofreram perda do tecido dentinário, enquanto os do grupo ácido apresentaram perdas localizadas em suas faces vestibulares (Figura 5.3, página 53). A análise de variância mostrou que existem diferenças significativas ($p=0,0006$) entre as profundidades de perda de dentina devido ao tipo de tensão aplicada. A tabela 5.3 apresenta as médias, desvios padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey (5%) da profundidade de perda de tecido dentinário no grupo ácido.

Tabela 5.3 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo Tukey da profundidade (μm) de perda da dentina (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p<0,05$) entre os grupos)

Tipo de tensão	Média $\pm$ desvio padrão	Grupos homogêneos pelo Tukey (5%)
Tração	24 $\pm$ 6,0	A
Compressão	14 $\pm$ 4,9	B
Sem tensão	20 $\pm$ 5,1	A

Conforme pode ser observado na tabela 5.3, os espécimes submetidos à compressão apresentaram profundidade de perda de dentina significativamente menor que os demais, mas os espécimes sem tensão não se diferenciaram significativamente dos submetidos à tração.

5.1.4 Efeito total na dentina

Os corpos de prova sofreram desmineralização e perda de dentina durante o ensaio. O efeito total na dentina corresponde, portanto, ao somatório da profundidade destes dois processos.

A análise de variância das profundidades do efeito total da dentina mostrou que existem diferenças significativas ($p=0,0002$) decorrentes do tipo de tensão aplicada. A tabela 5.4 mostra a média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey (5%) em cada subgrupo.

Tabela 5.4 - Média, desvio padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey da profundidade (μm) do efeito total na dentina (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p<0,05$) entre os grupos)

Tipo de tensão	Média $\pm$ desvio padrão	Grupos homogêneos pelo Tukey (5%)
Tração	186 $\pm$ 22,7	A
Compressão	140 $\pm$ 27,2	B
Sem tensão	160 $\pm$ 20,4	B

A tabela 5.4 mostra que a profundidade do efeito total da dentina nos espécimes submetidos à tração foi significativamente maior que nos demais, mas os espécimes submetidos à compressão não se diferenciaram significativamente dos sem tensão.

5.2 CORTES LONGITUDINAIS

5.2.1 Desmineralização do esmalte

As medidas de profundidade de desmineralização do esmalte nos corpos de prova seccionados no sentido longitudinal foram realizadas em três regiões: na junção esmalte-dentina (E1), a 3,5 mm (E2) e a 7,0 mm (E3) desta junção.

Os corpos de prova do grupo água não apresentaram desmineralização visível do esmalte, enquanto os espécimes do grupo ácido mostraram uma área bem delimitada de desmineralização (Figura 5.4). No caso dos cortes longitudinais as perdas de tecido não são detectáveis, por falta de ponto de referência nas imagens.

Figura 5.4 - Imagens microscópicas de cortes longitudinais na face vestibular de palitos após ensaio: A – corpo de prova do grupo água; B – corpo de prova do grupo ácido

Na figura 5.5 é possível visualizar uma fresta entre a dentina e o esmalte na região cervical dos corpos de prova do grupo ácido, devida à perda de tecido dentinário subjacente ao esmalte. Esse espaço não é visível nos espécimes do grupo água. Nesta figura observa-se ainda que a fresta parece ser maior nos palitos que sofreram tração, quando comparada com a dos palitos submetidos à compressão ou sem tensão.

Figura 5.5 - Imagens representativas de cortes longitudinais da região cervical em aumento de 200X. As condições de exposição à água/ácido e tipo de tensão estão expressas nos títulos das colunas e linhas

Nos espécimes do grupo ácido submetidos à tração foram visualizadas microfraturas de esmalte na região cervical, conforme se observa na figura 5.6 - A, enquanto nos corpos de prova submetidos à compressão ou sem tensão essas microfraturas não foram observadas.

Figura 5.6 – Cortes longitudinais em aumento de 100X; A – sob tração; B – sob compressão; C – sem tensão. As setas pretas indicam microfraturas do esmalte. As setas brancas sugerem tufos do esmalte

Conforme se observa na figura 5.7, as fraturas do esmalte não tiveram um padrão semelhante de direção e localização. Quanto à direção, a figura mostra que

nem todas as fraturas foram paralelas ao longo eixo dos prismas de esmalte (A, B e D). Quanto à localização, a figura evidencia que em alguns espécimes as fraturas ocorreram mais próximas à JED (A, B e C), e em outros um pouco mais distante desta junção (D).

Figura 5.7 - Imagens microscópicas da região cervical de corpos de prova submetidos à tração, evidenciado microfraturas do esmalte; A, B, C – corpos de prova com aumento de 200X; D – corpo de prova com aumento de 100X

Os resultados da profundidade de desmineralização do esmalte em diferentes regiões da face vestibular dos espécimes submetidos à tração, a compressão e sem tensão estão apresentados na tabela 5.5. A comparação entre as colunas (tipo de tensão de acordo com a região do esmalte) foi realizada por meio da aplicação do teste t pareado ($p < 0,05$), e está representada na tabela através de letras latinas. A comparação entre as linhas (região do esmalte de acordo com o tipo de tensão) foi realizada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), e está representada através de letras gregas.

Tabela 5.5 - Profundidade (μm) de desmineralização do esmalte nos corpos de prova seccionados longitudinalmente. Média, desvio padrão e grupos homogêneos obtidos pelo teste t pareado (para comparação dentro de uma linha, entre colunas – letras latinas) e teste de Tukey (para comparação dentro de uma coluna, entre linhas – letras gregas). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($p < 0,05$)

Tipo de Tensão	E1	E2	E3
Tração	229 $\pm$ 32,8 A α	203 $\pm$ 27,3 B γ	192 $\pm$ 20,8 B λ
Compressão	167 $\pm$ 10,6 G β	159 $\pm$ 6,4 G δ	149 $\pm$ 7,8 H σ
Sem tensão	187 $\pm$ 28,0 X β	170 $\pm$ 18,7 XY δ	169 $\pm$ 19,3 Y $\lambda\sigma$

Gráfico 5.1 - Médias da profundidade da desmineralização do esmalte em cortes longitudinais com indicação de grupos homogêneos circundados por elipses. A – Grupos homogêneos obtidos pelo teste t pareado dentro de cada tipo de tensão. B – Grupos homogêneos obtidos pelo teste de Tukey para comparação do efeito do tipo de tensão dentro de uma mesma região do esmalte

O gráfico 5.1 (A) evidencia que a profundidade de desmineralização do esmalte nos espécimes sob tração foi significativamente maior na região cervical (E1) que nas demais regiões. Para os corpos de prova que sofreram compressão, as regiões E1 e E2 não apresentaram diferença significativa entre si, porém a região E3 teve desmineralização significativamente menor às outras. Nos corpos de prova sem tensão só houve diferença significativa entre os dois extremos (E1 e E3).

O gráfico 5.1 (B) mostra que a profundidade de desmineralização do esmalte na região cervical (E1) é significativamente maior nos corpos de prova sob tração do que nos demais grupos. Este resultado está de acordo com o encontrado nesta região nos palitos seccionados transversalmente (página 49). Nas regiões E2 e E3 a profundidade de desmineralização é significativamente maior nos corpos de prova sob tração do que naqueles sob compressão.

Na tabela 5.6 chama a atenção o reduzido valor do desvio padrão nas três medidas realizadas nos palitos submetidos à compressão quando comparado aos palitos submetidos à tração e sem tensão.

5.2.2 Desmineralização da dentina

Os corpos de prova do grupo água não sofreram desmineralização superficial detectável, enquanto que os do grupo ácido sempre apresentaram desmineralização do tecido dentinário. A figura 5.8 mostra imagens representativas de palitos dos grupos água e ácido que evidenciam este fato.

Figura 5.8 - Imagens microscópicas de cortes longitudinais em dentina na face vestibular de palitos após ensaio: A – corpo de prova do grupo água; B – corpo de prova do grupo ácido

A análise de variância mostrou que existem diferenças significativas ($p=0,0484$) entre as profundidades de desmineralização da dentina devidas ao tipo de tensão aplicada. As médias, desvios padrão e grupos homogêneos pelo teste de Tukey (5%) estão apresentados na tabela 5.6.

Tabela 5.6 - Média, desvio padrão e análise do teste de Tukey da profundidade (μm) de desmineralização da dentina em cortes longitudinais (letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos)

Tipo de tensão	Média $\pm$ desvio padrão	Grupos homogêneos pelo Tukey (5%)
Tração	183 $\pm$ 11,1	A
Compressão	162 $\pm$ 13,5	B
Sem tensão	177 $\pm$ 16,7	B

A profundidade de desmineralização da dentina nos palitos seccionados longitudinalmente submetidos à tensão de tração foi significativamente maior que os demais, porém os espécimes submetidos à compressão não se diferenciaram significativamente dos que não receberam tensão. Resultado semelhante foi observado nos palitos seccionados no sentido transversal (página 52).

6 DISCUSSÃO

Atualmente a etiologia das lesões cervicais não cariosas é reconhecida como multifatorial, pois envolve a interação de fatores diversos como a presença de ácidos de diferentes origens, mecanismos tribológicos variados e a concentração de tensões, no entanto as contribuições de cada um dos fatores permanecem obscuras. As causas mais amplamente aceitas destas lesões são a abrasão mecânica e a corrosão química, sendo a abfração ainda uma teoria bastante questionada. Questiona-se o nome “abfração” porque não foram encontradas evidências de que as lesões progridam às custas de fraturas, que necessariamente deveriam ocorrer também na dentina, já que os maiores volumes perdidos ocorrem neste tecido (37). Por outro lado, questiona-se se é razoável atribuir o nome da lesão a apenas um dos fatores etiológicos, já que quase todos concordam em que clinicamente concorre sempre interação da tensão (que não se sabe ao certo se produz ou não fraturas) com algum outro agente etiológico (ácido e/ou abrasivo), para produzirem conjuntamente o efeito (13); mas poderia se retrucar que, se a “fratura à distância” estivesse presente, seria um mecanismo muito específico, que poderia dar o nome à lesão. Questiona-se também o mecanismo pelo qual a tensão conduz ao desgaste acelerado [corrosão sob tensão (22, 33), e não está ainda determinado se tensões de tração atuam diferentemente das de compressão (38, 40).

Desta forma, apesar dos inúmeros estudos sobre a influência das tensões na formação das lesões cervicais não cariosas, não existe um consenso a respeito da real contribuição das tensões de tração e compressão na formação destas lesões, e por isso mais estudos são necessários para elucidar essa questão.

É conhecido que a solubilidade do tecido dentário não é uma propriedade intrínseca do material, ou seja, dependente apenas de sua composição, pois ela depende das condições a que o tecido está submetido, tais como o pH do meio e a concentração de determinados eletrólitos, sendo por isso considerada uma propriedade “do sistema experimental”, ou propriedade *sistêmica*. Segundo a teoria da abfração, a tensão a que o dente foi submetido também seria um dos fatores que interfeririam na solubilização do esmalte e da dentina já que, por terem se fraturado e dividido em pequenos fragmentos, ficaria facilitada a interação com o solvente, além de ficarem mais vulneráveis à ação de eventuais agentes abrasivos.

Para pesquisar a dissolução preferencial do tecido dentário em regiões submetidas à tensão, utilizou-se nesta pesquisa, a aplicação de carregamento estático de 800 gf em corpos de prova imersos em solução ácida de pH 4,5 durante 72h. Estas condições não tiveram o propósito de simular fielmente as condições do meio bucal (na clínica a carga é dinâmica e repetitiva e o pH é variável ao longo do tempo), mas sim de avaliar se o estado de tensão influi ou não na solubilidade do tecido dentário.

Nos corpos de prova do grupo água não ocorreu desmineralização, perda de material ou qualquer outra alteração visível no esmalte ou na dentina quando submetidos à tensão de tração ou compressão (comparar, na Figura 5.5, o quadro C com A ou com B). Isto parece evidenciar que apenas a tensão, conforme aplicada neste estudo, não é capaz de provocar dissolução do tecido dentário, nem trincas ou fraturas. Ela atuaria como fator coadjuvante, com potencial de facilitar ou proteger as estruturas dentárias da ação corrosiva do ácido, conforme será descrito adiante.

A seguir serão analisados separadamente os comportamentos do esmalte e da dentina quando submetidos à tensão em meio ácido.

6.1 INFLUÊNCIA DA TENSÃO NO ESMALTE EM MEIO ÁCIDO

Como já referido acima, nos corpos de prova imersos em água destilada não foram observadas alterações no esmalte que pudessem ser atribuídas à influência da tensão nesses espécimes. Em todos os corpos de prova foram visualizadas trincas, lamelas, tufos e áreas escuras não superficiais, que provavelmente já estariam presentes antes da aplicação dos ensaios químicos e mecânicos desta pesquisa, visto que todas estas estruturas estavam também presentes (e aparentemente com igual frequência) inclusive naqueles espécimes sem tensão. Isto pode ser explicado pelo fato de terem sido utilizados dentes que já tinham permanecido por algum tempo na cavidade bucal, submetidos aos desafios fisiológicos.

Nos corpos de prova do grupo ácido não foi detectada perda visível do esmalte, mas apenas desmineralização superficial desta estrutura, diferente da dentina, que apresentou desmineralização e perda. Acredita-se que isso aconteceu, entre outros fatores, devido ao curto espaço de tempo (72h) em que o ensaio foi realizado, pois o esmalte, em virtude de seu maior conteúdo mineral e menor permeabilidade que a dentina, portanto menor solubilidade à ação dos ácidos, necessitaria de um tempo maior para ocorrer perda de sua estrutura.

Três aspectos a respeito do efeito da tensão no esmalte foram observados e serão discutidos: aparecimento de uma fresta na região cervical entre o esmalte e a dentina, características das trincas e fraturas do esmalte cervical e profundidade de desmineralização do esmalte.

6.1.1 Fresta na junção amelodentinária

Conforme se observa na figura 5.5 (página 58), que compara secções longitudinais da região cervical de corpos de prova imersos em água ou ácido, nos corpos de prova do grupo ácido foi observada uma fresta entre o esmalte e a dentina na região cervical. Esta fresta ocorreu devido à perda da dentina subjacente ao esmalte, que provoca um descolamento na junção esmalte-dentina, deixando um espaço visível entre estes dois tecidos. Como consequência desta fresta, o esmalte cervical fica sem suporte dentinário, e por conseguinte mais suscetível à fraturas.

Ainda na figura 5.5, pode-se observar que a fresta foi maior nos espécimes submetidos à tração do que nos espécimes submetidos à compressão ou sem tensão.

O aumento da fresta nos corpos de prova sob tração ocorreu, provavelmente, porque a dentina, por apresentar uma proporção elevada de colágeno em sua composição, é capaz de se deformar permanentemente por escoamento viscoso, mesmo sob tensões inferiores ao seu limite de proporcionalidade. Assim, sob um carregamento estático prolongado pode ter ocorrido um encurvamento da dentina que não foi acompanhado pelo esmalte. Ocorre assim o afastamento entre o

esmalte e a dentina na região cervical (já separados devido à perda da dentina subjacente ao esmalte) e, conseqüentemente, aumento da fresta. Com a ação continuada do esforço que tende a fletir e manter sob tração a região cervical do palito, a fresta tenderia a aumentar cada vez mais. Esta fresta permitiria a penetração da solução ácida entre a dentina e o esmalte, o que garantiria que o ácido agisse diretamente não apenas no esmalte superficial, mas também no esmalte que, em condições normais, estaria unido à dentina e não estaria exposto ao ácido.

Esta explicação ganha força ao notar, na mesma figura, que nos espécimes submetidos à compressão a fresta é muito pequena ou quase inexistente. Isto se explicaria porque, neste caso, a flexão do corpo de prova ocorre com tendência de provocar uma concavidade voltada para vestibular, e portanto determina a aproximação da dentina e do esmalte. A diminuição e/ou fechamento desta fresta permitiria uma proteção da região cervical contra a penetração do ácido na região da junção amelodentinária, subjacente ao esmalte.

Nos corpos de prova que não sofreram carregamento, a fresta teve uma largura claramente inferior aos espécimes submetidos à tração e superior àqueles submetidos à compressão, pois embora em todos os casos tenha ocorrido perda da dentina subjacente ao esmalte, neste caso não ocorreu flexão do palito que contribuiria para aumentar ou diminuir a referida fresta.

6.1.2 Trincas e fraturas do esmalte cervical

Nos cortes transversais dos corpos de prova (Figura 5.1, página 50), são visualizadas trincas de esmalte, tanto nos espécimes do grupo ácido como naqueles do grupo água. Porém as trincas existentes nos corpos de prova do grupo ácido parecem mais largas, tanto nos palitos submetidos à tensão como naqueles que não sofreram tensão. Acredita-se que as trincas aparecem mais largas nos três grupos com ácido porque a permeabilidade da estrutura escura (trinca ou lamela) seja maior que a das regiões adjacentes e facilite a penetração do ácido, que desmineralizaria

a hidroxiapatita ao seu redor, tornando-a mais escura, como acontece com a lesão superficial.

As trincas, alargadas por efeito do ácido e/ou a tensão, quando submetidas a tração, podem desencadear fraturas, com possibilidade de desprendimento de fragmentos do esmalte. Do contrário, a tensão de compressão evitaria a propagação das trincas e, por conseguinte, não propiciaria a fratura do esmalte. Isto pode ser evidenciado na figura 5.2 - A (página 51), na qual se percebe a associação entre trincas e fratura do esmalte num corpo de prova submetido à tração.

Fraturas de esmalte desmineralizado podem ser comprovadas em cortes longitudinais dos corpos de prova. Conforme se observa na figura 5.6 (página 59), as fraturas foram observadas apenas em espécimes sob tração, mas não foram visualizadas nos corpos de prova submetidos à compressão ou sem tensão. Nos corpos de prova desta figura foram observadas apenas fraturas de esmalte desmineralizado, porém as fraturas às vezes atravessavam todo o esmalte ainda não desmineralizado.

A presença de fraturas no esmalte sob tração já tinha sido aventada como hipótese por Lee e Eakle (2), quando destacaram que o esmalte apresenta alta resistência à compressão mas limitada capacidade de suportar tração. Porém, a ilustração publicada neste artigo (ver na página 20) mostra que os autores admitiam que as fraturas poderiam se propagar através da JED, atingindo também a dentina. Os autores não descrevem em que estrutura da dentina ocorreriam as fraturas.

A figura 5.7 evidencia que os traços de fraturas no esmalte não apresentaram um padrão semelhante entre os corpos de prova, uma vez que mostraram trajetos diferentes e nem todas elas parecem ser paralelas ao longo eixo dos prismas de esmalte. Algo equivalente também foi observado macroscopicamente no estudo piloto, quando foram realizados ensaios de dobramento para determinar a carga que provocaria a fratura completa dos palitos. Na maioria dos palitos, a fratura se apresentava de trajeto oblíquo ou irregular, e não perpendicular ao longo eixo do palito.

Um outro fator a ser destacado sobre as fraturas no esmalte, conforme pode ser observado na figura 5.7 – A e B (página 60), é que aparentemente em alguns corpos de prova a fratura ocorreu antes da formação da fresta entre o esmalte e a dentina, pois o fragmento do esmalte pareceu ter ficado preso à dentina e, por isso, a fresta apresenta-se mais larga incisalmente ao fragmento. Porém em outros

espécimes a fratura parece ter ocorrido após a formação da fresta, e neste caso parece ter existido um deslocamento do fragmento de esmalte (Figura 5.6 – A, página 59).

A possibilidade de fratura do esmalte cervical sem suporte dentinário foi defendida por Rees e Hammadeh (36) ao realizarem um estudo por elementos finitos. Neste estudo os autores mostraram que o esmalte cervical sem apoio dentinário seria mais susceptível à fratura porque a zona de descontinuidade subjacente ao esmalte causa um aumento drástico nos valores de máxima tensão principal, que em muitos casos ultrapassa o valor de resistência à fratura do esmalte. Para os autores, a deterioração prévia da dentina subjacente é um fator que contribui para a fratura do esmalte cervical.

A presença de fraturas no esmalte, no entanto, não foi detectada por Hur et al. (37) ao investigaram dentes extraídos que apresentavam lesões cervicais não cáries. Nesse estudo os autores avaliaram secções longitudinais dos dentes digitalizados por microtomografia computadorizada. É possível que as fraturas no esmalte não tenham sido observadas porque neste estudo foram analisados dentes com lesões cervicais já bem desenvolvidas que não permitem identificar os fenômenos que aconteceram no início das lesões. Além disso, a resolução utilizada na digitalização das imagens (700 X 700 X 700 voxels) pode não permitir a visualização precisa das trincas e/ou fraturas.

6.1.3 Profundidade de desmineralização do esmalte

A profundidade de desmineralização do esmalte nos corpos de prova submetidos à tração foi superior à dos espécimes submetidos à compressão ou sem tensão. Estes resultados foram encontrados tanto em espécimes seccionados transversamente (Tabela 5.1, página 52), como longitudinalmente (Tabela 5.5 – coluna E1, página 61). Isso poderia ser explicado porque a tensão de tração provocaria um afastamento tanto dos átomos na grade cristalina (que os poderia

deixar mais reativos perante a solução ácida, caracterizando a corrosão acelerada pela tensão), como dos cristais de hidroxiapatita e/ou dos prismas de esmalte, que são envolvidos por substância mais rica em proteínas e, portanto, presumivelmente mais suscetíveis ao afastamento sob tensões trativas. Este afastamento facilitaria a difusão do ácido para regiões mais profundas, o que contribuiria para acelerar a desmineralização do esmalte, mesmo que não tenha mudado a solubilidade da hidroxiapatita (solubilização preferencial dos cristais submetidos à tração, por um processo de aumento local da permeabilidade ao ácido, sem alteração do pH crítico dos cristais).

Uma hipótese a ser considerada é que a tensão aplicada durante um período prolongado possa provocar escoamento plástico irreversível da proteína. Se este escoamento irreversível fosse responsável pelo aumento da permeabilidade ao ácido, a presença da tensão já não seria imprescindível. A partir desse momento a dissolução do tecido poderia progredir preferencialmente naquela região por ação apenas do ácido, já que a permeabilidade teria sido definitivamente aumentada no local. Esta hipótese poderia ser posta à prova num experimento em que a tensão e o ácido fossem aplicados alternadamente e não, como no caso deste estudo, concomitantemente. Este experimento parece muito importante de ser realizado para saber se seria necessário aplicar tensão concomitantemente (o que clinicamente não parece que possa ser muito frequente) ou se bastaria que a tensão fosse aplicada de forma prévia ou alternada com o ácido.

É difícil determinar se a tensão consegue aumentar o pH crítico da hidroxiapatita. Para saber se o pH crítico foi alterado, seria necessário um estudo que comprovasse maior concentração de íons provenientes da hidroxiapatita em soluções já equilibradas provenientes de espécimes tracionados, ou verificar exatamente o pH em que começa a existir a dissolução. Estas duas possibilidades parecem de difícil execução prática. Mas o que parece suficiente para produzir uma LCNC é a ocorrência de dissolução preferencial da região submetida a tração, mesmo que isso ocorra por um mecanismo não propriamente eletroquímico, como seria o aumento da permeabilidade (possivelmente provocado pela tração da camada proteica que envolve os cristais). Esta hipótese também não será facilmente comprovada por algum experimento.

O mecanismo seria semelhante ao que conduz à dissolução preferencial de cristais de hidroxiapatita dispostos na cabeça ou na cauda de prismas de esmalte

durante o condicionamento ácido: uma permeabilidade diferente ao ácido na região da cabeça e da cauda explica que, no mesmo tempo de condicionamento e mesmo apresentando todos os cristais o mesmo pH crítico, termine existindo diferença na velocidade de dissolução de cada região, o que resulta nas conhecidas características das superfícies de esmalte condicionadas.

Por outro lado, os corpos submetidos à compressão apresentaram menor profundidade de desmineralização porque a compressão tenderia a aproximar os cristais e/ou os prismas do esmalte, e isso levaria a um fechamento dos espaços entre eles, talvez às custas da diminuição da permeabilidade da camada proteica quando submetida a compressão, que promoveria uma aproximação dos seus átomos. Desta forma a penetração da solução ácida seria inibida, e o esmalte cervical ficaria relativamente protegido da dissolução.

A presença da fresta entre o esmalte e a dentina da região cervical que, conforme já explicado anteriormente, é maior nos espécimes sob tração do que nos demais grupos, é mais um fator que facilitaria a dissolução do esmalte. Esta fresta aumenta a área de contato da solução ácida com o esmalte, o que contribuiria para permitir uma outra direção de propagação do ácido, e portanto maior dissolução do esmalte nos espécimes submetidos à tração. Nos corpos de prova sob compressão ou sem tensão, esta fresta é bastante reduzida, e isso protegeria os corpos de prova destes grupos contra a penetração do ácido através da fresta.

Os resultados encontrados nesta pesquisa estão em concordância com os resultados observados por Palamara et al. (34). Os autores avaliaram a dissolução do esmalte de dentes com e sem carregamento, e verificaram que os dentes submetidos a carregamento apresentam maior profundidade e volume de perda de esmalte que os dentes sem carregamento. Nos dentes com carregamento, a perda de esmalte foi maior na região submetida a tração que na região sob compressão.

Nos corpos de prova seccionados longitudinalmente, foi comparada a profundidade de desmineralização do esmalte em três regiões distintas: na região cervical (E1), no terço médio do palito (E2) e próximo à extremidade livre do palito (E3). Essas medidas foram realizadas para confirmar a influência da tensão na desmineralização do esmalte, uma vez que a análise de elementos finitos (Figura 4.4, página 37) mostrou que a tensão na região cervical (E1) é da ordem de 7 a 10 vezes maior que na região E3.

A desmineralização do esmalte na região cervical é também influenciada pelas características intrínsecas desta região, pois esta é uma região do esmalte mecanicamente fragilizada em virtude de apresentar pequena espessura, mais fraca ligação com a dentina e menor dureza (24).

O gráfico 5.1 – A (página 61) compara as médias de profundidade da desmineralização do esmalte entre as três regiões dos corpos de prova expostos a cada desafio. O grupo sem carga, que seria o padrão de desmineralização do esmalte quando submetido ao ácido, apresentou desmineralização significativamente mais profunda em E1 comparado com E3, o que leva a concluir que a reatividade do esmalte perante o ácido não é uniforme em todo o esmalte vestibular. A região cervical é significativamente mais susceptível ao ácido, e por isso apresentou maior profundidade de desmineralização. A suscetibilidade diminui em direção à região incisal, que apresentou menor profundidade de desmineralização. No grupo sob tração fica evidente um pico de profundidade de desmineralização na região cervical (E1), que deve ser interpretado como uma evidência de que a tensão de tração potencializa a desmineralização do esmalte cervical, mesmo considerando que exista uma maior suscetibilidade intrínseca ao ácido na região cervical. Como foi constatada uma falta de uniformidade do esmalte no que se refere a sua reatividade perante o ácido, da qual não se conhece ao certo o motivo, os resultados desta pesquisa não permitem afirmar que a tração aumente a profundidade de desmineralização de qualquer tipo de esmalte: seria necessário confirmar esta hipótese em outro experimento que submetesse à tração também uma região mais incisal. Os corpos de prova submetidos à compressão, por outro lado, comportaram-se de modo muito parecido aos sem tensão, mostrando o mesmo gradiente na reatividade. Seria de se esperar que, se a compressão fosse capaz de proteger o esmalte da ação do ácido, o gradiente de reatividade deveria apresentar uma inversão, pois a tensão de compressão deve ter sido muito maior na região cervical. Assim, a hipótese do efeito protetor da compressão não ficou comprovada neste gráfico, e poderia ser interpretado apenas como uma tendência, mas não uma diferença significativa.

A parte B do gráfico 5.1 (página 61) confirma o efeito prejudicial significativo da tração na região cervical (tanto na E1 como na E2). Baixas tensões de tração não parecem suficientes para aumentar significativamente a profundidade de desmineralização no tempo utilizado no ensaio; parece interessante programar

experimentos em que os espécimes sejam submetidos à tensões menores por períodos mais longos, pois não fica claro neste desenho experimental que a magnitude da tensão esteja correlacionada com a intensidade do efeito (protetor ou facilitador da ação do ácido), já que existe o fator região que também afeta a reatividade ao ácido⁴.

6.2 INFLUÊNCIA DA TENSÃO NA DENTINA EM MEIO ÁCIDO

A estrutura da dentina é diferente tanto histologicamente como quimicamente da do esmalte. Isto faz com que estes dois tecidos respondam de forma diferente quando submetidos à tensão e/ou ao ácido. A elevada proporção de fibras colágenas e a orientação destas fibras perpendiculares aos túbulos dentinários, confere à dentina elevada resistência à flexão, e isto permite que ocorra uma deformação sem ocorrerem fraturas. Como o colágeno permite escoamento viscoso sob tensão, podem ocorrer deformações permanentes sob tensões inferiores ao limite de elasticidade, desde que a tensão atue durante um longo tempo sem interrupção. O encurvamento da dentina foi visualizado até mesmo macroscopicamente nos corpos de prova deste experimento e já foi relatada quando descrita a formação da fresta entre a dentina e o esmalte no encontro destes dois tecidos. Este fato, associado a capacidade da junção esmalte-dentina de modificar e/ou inibir a propagação das trincas do esmalte em direção à dentina (68), explica por que não foram observadas microfraturas da dentina na carga utilizada, diferente do que ocorreu com o esmalte.

A natureza tubular da dentina confere um alto grau de permeabilidade a este tecido, o que o torna mais susceptível à ação do ácido. Por esse motivo, já era esperado que o efeito do desafio ácido, com ou sem carregamento, fosse mais

⁴ Na realidade esta interpretação é baseada no resultado de elementos finitos, que considerou o esmalte como isotrópico e homogêneo; mas, se fosse considerado que ele pode ter um menor módulo de elasticidade na região cervical, isto conduziria a uma significativa diminuição das tensões calculadas para esta região.

pronunciado na dentina que no esmalte. Isto ficou confirmado, pois além das zonas de desmineralização dos corpos de prova, apareceram também regiões com perda do contorno original da dentina, que não foram observadas no esmalte. Além disso, a profundidade do efeito total do ensaio sobre a dentina foi aproximadamente 15% maior que no esmalte.

É provável que a faixa superficial identificada como perda de dentina corresponda a uma região vazia em decorrência da total remoção da parte inorgânica acompanhada de retração do colágeno, já que não se espera que o colágeno seja dissolvido no ácido e não foi aplicado nenhum processo mecânico ou químico que justifique sua remoção. Ou seja: a profundidade de desmineralização total deve ser maior que a profundidade de perda, pois inclui o colágeno que não foi removido.

Portanto, a camada de dentina desmineralizada pode apresentar uma região de colágeno retraído que não se consegue distinguir, nos cortes histológicos realizados nesta pesquisa, de camadas parcialmente desmineralizadas. Por esse motivo, parece mais significativa a análise do efeito total na dentina do que a análise individual das profundidades daquilo que foi classificado como “perda” ou “desmineralização”.

Ao avaliar os efeitos do ensaio na dentina, parece existir uma tendência, observada também no esmalte, de que a compressão protege perante a corrosão ácida da dentina, e fica evidente que a tração acelera o processo, conforme será analisado a seguir.

Como se observa na tabela 5.3 (página 54), a profundidade de perda de dentina foi bastante reduzida, e mostrou valores menores no grupo sob compressão que nos outros grupos, o que sugere um efeito protetor da compressão. É provável que a flexão na dentina causada pela tensão de compressão provoque um encurtamento da dentina da superfície vestibular na direção do longo eixo do palito. Isto leva a uma aproximação entre os túbulos dentinários na superfície da dentina, às custas da dentina intertubular, que é rica em fibras colágenas e portanto menos rígida, e isso provocaria uma diminuição da permeabilidade ao ácido e, por conseguinte, diminuição da dissolução dos componentes inorgânicos da dentina. Por analogia, a tensão de tração provocaria uma flexão do dente em sentido contrário a superfície vestibular do espécime, que determinaria afastamento entre os túbulos dentinários, e isso contribuiria para aumentar ainda mais a permeabilidade da

dentina. No entanto, apesar dos resultados mostrarem valores maiores da profundidade de perda da dentina no grupo sob tração, esse valor não foi estatisticamente significativo em comparação com os espécimes não submetidos à carga.

Porém quando se observa a tabela 5.2 (página 53) e a tabela 5.6 (página 64), que mostram os resultados da profundidade de desmineralização da dentina em corpos de prova seccionados transversal e longitudinalmente, respectivamente, assim como a tabela 5.4 (página 55), que recolhem os resultados de profundidade total do efeito, fica claro que os corpos de prova sob tração tiveram o efeito significativamente mais severo que os espécimes sem tensão ou sob compressão, e embora pareça existir uma tendência de que a compressão proteja a dentina da dissolução ácida, os valores encontrados não apresentaram diferença significativa entre os espécimes sob compressão e sem tensão. A ação protetora da compressão na dissolução ácida da dentina talvez fosse evidenciada em testes de mais longa duração e/ou pH menos agressivo, para que o efeito da tensão fosse mais evidenciado em relação ao pH.

Os resultados encontrados nesta pesquisa não apresentaram concordância com a pesquisa realizada por Staninec et al. (38). Os pesquisadores submeteram corpos de prova em forma de palitos engastados e submetidos a dobramento a dois ambientes diferentes de pH (6 e 7). Mediram a perda de tecido dentinário em regiões submetidas a tração e a compressão. As regiões submetidas a compressão sofreram maior perda de dentina que aquelas submetidas a tração. No entanto, a pesquisa conduzida pelos autores apresentou diferenças na metodologia que podem ter influenciado nos resultados discordantes. Os autores utilizaram o mesmo corpo de prova para verificar o efeito da tração e da compressão. Pelo desenho experimental, a região submetida à compressão correspondeu sempre à dentina mais próxima à polpa, e a submetida à tração foi a dentina próxima à JED. Sabe-se que a dentina profunda apresenta maior proporção e maior diâmetro interno dos túbulos dentinários (51), menor espessura de dentina peritubular (52) e menor dureza (53) do que a dentina próxima à junção amelodentinária, e estas características contribuem para sua maior permeabilidade à dissolução ácida. Além disso, naquele estudo, o local onde a tensão se concentrou é contíguo com o de engastamento (e pode fornecer alguma proteção à ação do ácido), o que também poderia contribuir com a divergência de resultados. Outra diferença a ser destacada

é que os autores observaram perda de dentina em pH 7, diferentemente desta pesquisa, em que a perda ou desmineralização de dentina só foram visualizadas em meio ácido. Os autores justificaram que a perda de dentina em pH neutro (com ou sem tensão) ocorreu porque foi utilizada uma solução tamponada contendo tetraborato de sódio e tris(hidroximetil)aminometano. Cálcio, fosfato e flúor foram evitados para maximizar a possibilidade de perda de material. Sabendo que o pH crítico é dependente dos íons encontrados na solução e que não se conhece a descrição clínica de pH crítico tão alto como 7,0, é de se colocar em dúvida a utilidade da solução usada por estes autores para simular o que acontece clinicamente; ou então, os autores estariam apontando para um outro foco na investigação da ocorrência de LCNC, pela presença de substâncias pouco comuns na boca dos pacientes afetados. Mas, se fosse este o caso, poderia se esperar uma dissolução generalizada dos tecidos e não apenas na região cervical.

Mishra et al. (39, 40) mediram a profundidade de perda e de desmineralização da dentina sob tensão e encontraram resultados semelhantes aos de Staninec et al., ou seja, regiões submetidas a tensão de compressão sofreram maior desmineralização e perda na dentina que regiões sob tração. Isto já seria explicado, pois os autores realizaram metodologia similar: avaliaram no mesmo corpo de prova submetido a esforço de dobramento a tração de um lado e a compressão do outro, portanto substratos com profundidades e, conseqüentemente, características sempre diferentes associadas a cada tipo de tensão. Os autores também verificaram que as regiões com maior concentração de tensão apresentaram maior profundidade de desmineralização e perda de dentina que as regiões com menor tensão. No presente estudo esta correlação não pode ser realizada, pois as medidas de perda e desmineralização da dentina foram realizadas em um único local, e por isso não foi possível fazer ilações a respeito da correlação entre nível de tensão e o efeito neste tecido. Esta correlação foi observada apenas no esmalte, onde foram realizadas medidas em três regiões com diferentes níveis de tensão. Também nesta pesquisa os autores observaram perda de dentina em pH bastante elevado, como 7 e 10, em corpos de prova com ou sem carregamento. Porém os autores não justificaram o fato, nem especificaram a solução utilizada no experimento. Apenas ressaltaram que os diferentes níveis de pH foram obtidos através da adição de hidróxido de sódio. Causou também estranheza o fato de que os autores observaram perda de dentina, mas não desmineralização, em pH 7 e 10.

7 CONCLUSÕES

Considerando os seguintes fatos,

- ✓ Observados tanto no esmalte como na dentina:
 1. A tensão em espécimes mantidos em água destilada (pH neutro) não foi capaz de provocar perda e/ou desmineralização, nem trincas ou fraturas.
 2. Nos espécimes imersos em ácido, com ou sem tensão, ocorreu desmineralização.
 3. A tensão de tração associada ao ácido foi responsável por um aumento significativo na profundidade de desmineralização em relação a espécimes não carregados ou submetidos à tensão de compressão.
 4. Apesar de que a tensão de compressão não tenha influenciado significativamente na desmineralização provocada pelo ácido (em relação a ausência de carga), parece apresentar uma tendência a proteger do efeito do ácido;
 5. Não ocorreram fraturas nos espécimes sob compressão ou sem carga.
- ✓ Em relação exclusivamente ao esmalte:
 6. Os corpos de prova imersos em ácido e submetidos à tração apresentaram fraturas no esmalte cervical.
- ✓ Em relação exclusivamente à dentina:
 7. O ácido, com ou sem carregamento, afetou mais em profundidade a dentina que o esmalte e chegou a produzir perdas de volume superficial;
 8. A tensão não produziu fraturas na dentina. Fraturas em esmalte adjacente nunca ultrapassaram a junção esmalte-dentina;
 9. A ação protetora da compressão foi evidenciada uma vez que a profundidade de perda de dentina foi significativamente menor nos espécimes sob compressão que naqueles sem tensão ou sob tração.

Parece lícito concluir que a tensão influi na ação do ácido sobre os tecidos dentários, sendo que a tração aumenta significativamente os danos e a compressão tende a reduzi-los.

REFERÊNCIAS⁵

1. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci. 1996;104:151-5.
2. Lee WC, Eakle WS. Possible role of tensile stress in the etiology of cervical erosive lesions of teeth. J Prosthet Dent. 1984 Sep;52(3):374-80.
3. Grippo JO. Abfractions: a new classification of hard tissue lesions of teeth. J Esthet Dent. 1991 Jan-Feb;3(1):14-9.
4. Grippo JO, Simring M, Schreiner S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. J Am Dent Assoc. 2004 Aug;135(8):1109-18; quiz 63-5.
5. Ritter AV, Grippo JO, Coleman TA, Morgan ME. Prevalence of carious and non-carious cervical lesions in archaeological populations from North America and Europe. J Esthet Restor Dent. 2009;21(5):324-34.
6. Kaidonis JA. Tooth wear: the view of the anthropologist. Clinical Oral Investigations. 2008;12(1):21-6.
7. Palmer B. Dental abfractions - a literature review and hypothesis. 2010; Available from: http://www.brianpalmerdds.com/hypothesis_abfractions.htm.
8. Wood I, Jawad Z, Paisley C, Brunton P. Non-carious cervical tooth surface loss: a literature review. J Dent. 2008 Oct;36(10):759-66.
9. Xhonga FA. Bruxism an effect on the teeth. J Oral Rehabil. 1977;4:65-76.
10. McCoy G. On the longevity of teeth. J Oral Implant. 1983;11(2):248-67.
11. Grippo AA. Important information. 2010; Available from: http://abfraction.com/Important_Information.html.

⁵De acordo com o Estilo Vancouver.

12. GRIPPO JO, SIMRING M, COLEMAN TA. Abfraction, Abrasion, Biocorrosion, and the Enigma of Noncarious Cervical Lesions: A 20-Year Perspective. *J Esthet Restor Dent*. 2012;24:10-25.
13. Michael JA, Townsend GC, Greenwood LF, Kaidonis JA. Abfraction: separating fact from fiction. *Aust Dent J*. 2009 Mar;54(1):2-8.
14. Black VG. A work on operative dentistry. Chicago, 1908.
15. Tonge CH, Luke DA. Dental anatomy: the paranasal sinuses. *Dent Update*. 1983 May;10(4):225-6, 8-9, 31.
16. Khan F, Young WG, Shahabi S, Daley TJ. Dental cervical lesions associated with occlusal erosion and attrition. *Aust Dent J*. 1999 Sep;44(3):176-86.
17. Garone Filho W, Silva VA. Lesões não Cariosas: o novo desafio da Odontologia. São Paulo: Santos; 2008.
18. Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Stress induced cervical lesion. *J Prosthet Dent*. 1992;67:718-22.
19. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc*. 2003 Dec;69(11):722-4.
20. Zipkin IM, Clure Fj. Salivary citrate and dental erosion; procedure for determining citric acid in saliva; dental erosion and citric acid in saliva. *J Dent Res*. 1949 Dec;28(6):613-26.
21. Levitch LC, Bader JD, Shugars DA, Heymann HO. Non-carious cervical lesions. *J Dent*. 1994 Aug;22(4):195-207.
22. Rees JS, Hammadeh M, Jagger DC. Abfraction lesion formation in maxillary incisors, canines and premolars: a finite element study. *Eur J Oral Sci*. 2003 Apr;111(2):149-54.
23. Braden M, Bairstow AG, Beide I, Ritter BJ. Electrical and piezo-electrical properties of dental hard tissues. *Nature*. 1966;212:1565-6.
24. Hammadeh M, Rees JS. A comparison of the erosive susceptibility of cuspal and cervical enamel using an ultrasonic technique. *J Oral Rehabil*. 2003 Feb;30(2):204-10.

25. Tomasik M. Analysis of etiological factors involved in noncarious cervical lesions. *Ann Acad Med Stetin*. 2006;52(3):125-36.
26. Dawid E, Meyer G, Schwartz P. The etiology of wedge-shaped defects: a morphological and function oriented investigation. *J Gnathol*. 1991;10(1):49-55.
27. Spranger H. Investigation into the genesis of angular lesions at cervical region. *Quintessence Int*. 1995;26:149-54.
28. Rees JS, Jagger DC. Abfraction lesions: myth or reality? *J Esthet Restor Dent*. 2003;15(5):263-71.
29. Michael JA, Townsend GC, Greenwood LF, Kaidonis JA. Abfraction: separating fact from fiction. *Aust Dent J*. 2009;54:2-8.
30. Bartlett DW, Shah P. A critical review of non-carious cervical (wear) lesions and the role of abfraction, erosion, and abrasion. *J Dent Res*. 2006 Apr;85(4):306-12.
31. Litonjua LA, Sebastiano A, Bush PJ, Tobias TS, Cohen RE. Noncarious cervical lesions and abfractions: a re-evaluation. *J Am Dent Assoc*. 2003;134:845-50.
32. Palamara JEA, Palamara D, Messer HH, Tyas MJ. Tooth morphology and characteristics of non-carious cervical lesions. *J Dent*. 2006;34:185-94.
33. Whitehead SA, Wilson NH, Watts DC. Development of noncarious cervical notch lesions in vitro. *J Esthet Dent*. 1999;11(6):332-7.
34. Palamara D, Palamara JE, Tyas MJ, Pintado M, Messer HH. Effect of stress on acid dissolution of enamel. *Dent Mater*. 2001 Mar;17(2):109-15.
35. Lintojua LA, Bush PJ, Andreana S, Tobias TS, Coren RE. Effects of occlusal load on cervical lesions. *J Oral Rehabil*. 2004;31:225-32.
36. Rees JS, Hammadeh M. Undermining of enamel as a mechanism of abfraction lesion formation: a finite element study. *Eur J Oral Sci*. 2004 Aug;112(4):347-52.
37. Hur B, Kim C, Park JF, Versalius A. Characteristics of non-carious cervical lesions – an ex vivo study using micro computed tomography. *J Oral Rehabil*. 2011;38:469-74.

38. Staninec M, Nalla RK, Hilton JF, Richie RO, Watanate LG, Nonomura G, et al. Dentin erosion simulation by cantilever beam fatigue and pH change. *J Dent Res*. 2005;84:371-5.
39. Mishra P, Palamara JE, Tyas MJ, Burrow MF. Effect of loading and pH on the subsurface demineralization of dentin beams. *Calcif Tissue Int*. 2006 Oct;79(4):273-7.
40. Mishra P, Palamara JE, Tyas MJ, Burrow MF. Effect of static loading of dentin beams at various pH levels. *Calcif Tissue Int*. 2006 Dec;79(6):416-21.
41. Katchburian E, Arana V. *Histologia e Embriologia Oral*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
42. Kerebel B, Daculsi G, L.M. K. Ultrastructural studies of enamel crystallites. *J Dent Res*. 1979;58:844-51.
43. Habelitz S, Marshal SJ, Marshal JR GW. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol*. 2001;46:173-83.
44. Nishimaki A, Yashiro M. Kolliker's concept of enamel. *Dent Sci Rev* 2008;44(2):133–6.
45. Ge J, Cui FZ, Wang XM, Feng HL. Property variations in the prism and the organic sheath within enamel by nanoindentation. *Biomaterials*. 2005;26(16):3333-9.
46. Ten Cate AR. *Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função*. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
47. Spears IR, Van Noort R, Crompton RH. The effects of enamel anisotropy of stress in a tooth. *J Dent Res*. 1993;72(11):1526-31.
48. Jeng Y, Lin T, Hsu H, Chang H, Shieh D. Human enamel rod presents anisotropic nanotribological properties. *J Mech Behav of Biomed Mater*. 2011;4:515-22.
49. He LH, Swain MV. Enamel - A functionally graded natural coating. *J Dent*. 2009;37:596-603.
50. Marshall Jr GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997;25(6):441-58.

51. Mjor IA, Nordhal I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol.* 1996;41:401.
52. Ferraris MEG, Muñoz AC. *Histologia e embriologia bucodental.* 2 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 2006.
53. Kinney JH, Balooch IM, Marshall SJ, Marshall JR GW, Weihs TP. Hardness and young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Archs Oral Biol.* 1996;41(1):9-13.
54. Kinney JH, Balooch M, Marshall GW, Marshall SJ. A micromechanics model of the elastic properties of human dentine. *Arch Oral Biol.* 1999;44:813-22.
55. Marshall Jr GW, Balooch M, Gallagher RR, Gansky SA, Marshall SJ. Mechanical properties of the dentinoenamel junction: AFM studies of nanohardness, elastic modulus, and fracture. *J Biomed Mater Res.* 2001;54(1):87-95.
56. Balooch G, Marshall GW, Marshall SJ, Warren OL, Asif SAS, Balooch M. Evaluation of a new modulus mapping technique to investigate microstructural features of human teeth. *J Biomech.* 2004;37:1223-32.
57. Angker L, Swain MV. Nanoindentation: application to dental hard tissue investigations. *J Mater Res.* 2006;21:1893-905.
58. Kinney JH, Balooch M, Marshal SJ, Marshal JR GW, Weihs TD. Atomic force microscope measurements of the hardness an elasticity of peritubular an intertubular human dentin. *J Biomech.* 1996;118:133-5.
59. Palamara JEA, Wilson PR, Thomas CDL, Messer HH. A new imaging technique for measuring the surface strains applied to dentine. *J Dent.* 2000;28:141-6.
60. Arola D, Reid J, Cox ME, Bajaj D, Sundaram N, Romberg E. Transition behavior in fatigue of human dentin: Structure and anisotropy. *Biomaterials.* 2007;28:3867-75.
61. Bar-On B, Wagner HD. Elastic modulus of hard tissues. *J Biomech.* 2012;45:672-8.
62. Kinney JH, Gladden JR, Marshall GW, Marshall SJ, So JH, Maynard JD. Resonant ultrasound spectroscopy measurements of the elastic constants of human dentin. *J Biomech.* 2004;37:437-41.

63. Miyazaki M, Inage H, Onose H. Use of an ultrasonic device for the determination of elastic modulus of dentin. *J Oral Sci.* 2002;44(1):19-26.
64. Brauer DS, JoanF.Hilton JF, Marshall GW, Marshall SJ. Nano- and micro mechanical properties of dentine: Investigation of differences with tooth side. *J Biomech.* 2011;44:1626-29.
65. Giannini M, Soares CJ, Carvalho RM. Ultimate tensile strength of tooth structures. *Dent Mater.* 2004;20:322-9.
66. Habelitz S, Marshall SJ, Marshall Jr. GW, Balooch M. The Functional Width of the Dentino-Enamel Junction Determined by AFM-Based Nanoscratching. *J Struct Biol.* 2001;135:294-301.
67. White SN, Miklus VG, Chang PP, Caputo AA, Fong H, Sarikaya M, et al. Controlled failure mechanisms toughen the dentino-enamel junction zone. *J Prosthet Dent.* 2005;94(4).
68. Chan YL, Ngan AHW, King NM. Nano-scale structure and mechanical properties of the human dentine–enamel junction. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2011;4:785-95.
69. Imbeni V, Kruzic JJ, Marshall GW, Marshall SJ, Ritchie RO. The dentin-enamel junction and the fracture of human teeth. *Nature Mater.* 2005;4(3):229-32.
70. Anusavise KJ. *Phillips Materiais Dentários*. 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.