UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

**Avaliação *in situ* da ação do bochecho com
solução de sulfato ferroso na superfície dentária,
após a ação de um refrigerante, para reduzir
o efeito sinérgico entre erosão e abrasão**

Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Bauru, da Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
doutor em Odontologia, área de Biologia Oral.

(Edição Revisada)

Bauru
2005

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU**

**Avaliação *in situ* da ação do bochecho com
solução de sulfato ferroso na superfície dentária,
após a ação de um refrigerante, para reduzir
o efeito sinérgico entre erosão e abrasão**

Silvia Helena de Carvalho Sales Peres

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Bauru, da Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
doutor em Odontologia, área de Biologia Oral.

(Edição Revisada)

Orientadora: *Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf*

**Bauru
2005**

Sales-Peres, Sílvia Helena de Carvalho

Sa32a Avaliação *in situ* da ação do bochecho com solução de sulfato ferroso na superfície dentária, após a ação de um refrigerante, para reduzir o efeito sinérgico entre erosão e abrasão / Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres. -- Bauru, 2005.

211p ; il. ; 30 cm.

Tese, (Doutorado)-Faculdade de Odontologia de Bauru/USP.

Orientador: Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor: _____

Data: ____/____/____

Comitê de Ética da FOB: Projeto de pesquisa aprovado em 31/03/2004

Nº do Protocolo: 29/2004

Dados Curriculares

Sílvia Helena de Carvalho Sales-Peres

Nascimento	27 de setembro de 1963
Naturalidade	Catanduva-SP
Filiação	Rubens de Carvalho Josefina Capone de Carvalho
1981-1984	Curso de graduação em Odontologia - Faculdade de Odontologia de Lins.
1985	Curso de Aperfeiçoamento em Ortodontia Preventiva e Interceptiva, pela Associação Paulista de Cirurgiões-Dentista, Seção Regional de Bauru-SP.
1993	Concursada pela Secretaria de Administração Penitenciária do Estado de São Paulo, titular de cargo efetivo, lotada na P II de Bauru.
1996	Curso de especialização em Odontologia em Saúde Coletiva - Faculdade de Odontologia de Bauru –USP.
1997	Curso de Aperfeiçoamento em Odontopediatria, pela Fundação para o estudo e tratamento das Deformidades Crânio Faciais – FUNCRAF.
1997	Professora Assistente do Curso de Odontologia da Universidade Paulista - UNIP de Bauru - SP.

- 1997-2002** Professora Assistente do Curso de Fisioterapia da Universidade Paulista - UNIP de Bauru - SP.
- 1999** Professora do Curso de Especialização de Odontologia em Saúde Coletiva do HRAC-USP.
- 2001** Professora do Curso de Especialização de Odontologia em Saúde Coletiva da APCD-Bauru.
- 2003-2005** Professora Assistente da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/SP
- ASSOCIAÇÕES**
- ABENO - Associação Brasileira de Ensino Odontológico.
 - ABOPREV - Associação Brasileira de Odontologia Preventiva.
 - APCD - Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas, Seção Regional de Bauru, SP.
 - CROSP - Conselho Regional de Odontologia do Estado de São Paulo.
 - IADR - Internacional Association for Dental Research.
 - SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisas Odontológicas.

Epígrafe

"A felicidade não está em viver, mas em saber viver. Não vive mais o que mais vive, mas o que melhor vive, porque a vida não mede o tempo, mas o emprego que dela fazemos".

Autor Desconhecido.

Dedicatória

À Deus,

*Por ser o grande companheiro fiel de todas as horas,
renovando minha fé a cada dia e me fortalecendo ao longo
do caminho. Tua proteção e guia divina sempre serão
fontes inesgotáveis de inspiração, luta e vitória.*

*Dedico este trabalho especialmente a minha família, o
maior tesouro que se pode ter.*

*Aos meus amados filhos,
André e Matheus,*

*Só consegui chegar ao final desta jornada por me sentir
amparada por vocês. Vocês foram amigos, confidentes,
companheiros, compreensivos e, demonstraram um amor
incondicional.*

*Aos meus pais,
Rubens e Josefina*

*Os melhores exemplos de coragem, honestidade, trabalho,
perseverança e amor que eu poderia ter tido.*

Agradecimentos especiais

A minha orientadora, ***Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf***, obrigada por ter me orientado de forma sábia, pela confiança e pela disponibilidade que me direcionou, o meu respeito e admiração. Agradeço também pela amizade conquistada ao longo desta jornada.

Ao ***Prof. Dr. José Roberto de Magalhães Bastos***, que proporcionou meu crescimento profissional, dando oportunidades e desafios para que eu pudesse ampliar meu campo de trabalho. Por sua postura de verdadeiro e consagrado educador, mostrou-me o significado de ser um verdadeiro professor. Serei eternamente grata e leal.

Ao ***Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris***, colega de departamento, pela paciência, educação e humildade com que compartilhou seus conhecimentos e pelas análises estatísticas através das quais pude vislumbrar resultados tão importantes.

Ao ***Prof. Dr. Antonio de Castro Rodrigues***, pela confiança, apoio e incentivo. Sua conduta docente e exemplo humano sempre serão firmes suportes em minha vida. Muito obrigada pelo amigo que se mostrou nos

momentos mais difíceis desta jornada. Obrigada pela disponibilidade irrestrita em atender minhas solicitações de ajuda, colaborando de forma decisiva para a conclusão desse trabalho.

Aos meus voluntários: ***Ismar, Henrique, Siécola, Tiemi, Juliana, Flavinha, Vivian, Pianta, Ricardo e Carina***, obrigada por entenderem o quão importante este estudo era para mim e sacrificarem alguns dias de suas vidas pela nossa amizade.

Ao ***Arsenio***, companheiro do dia à dia no amplo sentido de vida. Colega de academia, colega de profissão odontológica e colega de docência, vivemos uma aproximação, vivemos uma forte ligação que nos uniu, vivemos confrontos, vivemos arrolamentos de nossas vidas, vivemos uma relação, vivemos confidências, vivemos uma amizade e vivemos um casamento abençoado por Deus. Agradeço pelo incentivo e confiança que me dedicou em todos estes anos de convivência. Muito obrigada pelo apoio e por me ingressar na carreira acadêmica.

Agradecimentos

Ao *Prof. Dr. Rumio Taga*, por ser manancial de conhecimento e me demonstrar que a melhor forma de ensinar é estudar permanentemente.

Aos professores *Dr. José Mauro Granjeiro, Dr. Carlos Ferreira dos Santos, Dr. Flávio Augusto Cardoso de Faria, Dr. Gerson Francisco de Assis*, pelo empenho e dedicação ao transmitirem seus conhecimentos, sendo também responsáveis pela ampliação do meu campo de atuação.

A minha amiga *Ana Elisa*, companheira de todas horas. Nunca esqueça que ter um ideal é saber lutar para alcançá-lo. Construir é nossa ferramenta chave. Agradeço a sua amizade sincera.

Aos meus colegas de doutorado, *Flávia, Helô, Tânia, Renato, Rodrigo, Ariadne, Ester e Cláudia*, pela amizade e companheirismo durante todo o curso.

As funcionárias do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva, área Saúde Coletiva, *Sílvia, Rosa, Marta e Helena* pela

atenção, solicitude e principalmente pela grande amizade que demonstraram por mim.

Aos funcionários da Bioquímica da FOB/USP, *Telma e Ovídio* pela atenção, disponibilidade e amizade com que sempre me trataram.

Aos funcionários da FOB/USP, *Sandra e Alcides* (Materiais Dentários), *Edmauro e Neide* (Endodontia), *Cisira* (Anatomia), *Vera* (Histologia) por serem muito solícitos e estarem sempre prontos e dispostos a ajudar.

À *Giane, Margareth e Letícia*, funcionárias da Seção de Pós-Graduação da FOB/USP, pela atenção e amizade que me trataram em todos os momentos.

Aos funcionários da Biblioteca da FOB/USP, *Cybelle, Valéria, Rita, César, Jane, Mônica, Adhemir, Marcelo e Maristela* pelo amor e doação em todos os momentos que foram solicitados.

A Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, Através de sua Diretora, *Profa. Dra. Maria Fidela de Lima Navarro*.

A Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, através de seu Presidente, *Prof. Dr. José Carlos Pereira*.

A *todos* que direta ou indiretamente colaboraram para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho, e tornaram este período inesquecível e me deram a certeza de que tudo valeu a pena.

“O saber a gente aprende com os mestres e com os livros. A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes”.

Cora Coralina.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE TABELAS	xviii
LISTA DE SIGLAS	xxii
RESUMO.....	xxv
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	07
2.1 Estudos de prevalência de erosão dentária	08
2.2 Efeito erosivo de bebidas sobre a superfície dentária	09
2.3 Ação da saliva da película adquirida	15
2.4 Efeito do íon Ferro na desmineralização	19
2.5 Estudos <i>In vitro</i>	23
2.6 Estudos <i>In situ</i>	29
2.7 Efeito sinérgico entre erosão e abrasão.....	35
2.8 Métodos para prevenir erosão dentária	37
3 PROPOSIÇÃO	49
4 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 Seleção da Bebida	52
4.2 Aspectos Éticos	52
4.3 Avaliação <i>In Vitro</i>	52
4.3.1 Delineamento Experimental	52
4.3.2 Avaliação do pH, capacidade tampão e concentração de fosfato e flúor na bebida	53
4.3.3 Corpos de Prova	57
4.3.4 Obtenção dos dentes bovinos	57
4.3.5 Obtenção dos espécimes de esmalte bovino	58
4.3.6 Planificação dos espécimes de esmalte bovino	59
4.3.7 Avaliação da Microdureza Inicial e Final	61
4.3.8 Etapa experimental	63
4.3.9 Análise Estatística	65
4.4 Avaliação <i>In Situ</i>	65

4.4.1 Delineamento Experimental	65
4.4.2 Amostra	70
4.4.3 Obtenção dos dentes humanos e preparo dos blocos	74
4.4.3.1 Ajuste do esmalte	74
4.4.3.2 Ajuste da dentina	78
4.4.4 Seleção dos voluntários	79
4.4.4.1 Avaliação do fluxo salivar.....	80
4.4.5 Preparo dispositivos intrabuciais e instruções aos voluntários	81
4.4.6 Procedimentos durante o experimento	83
4.4.7 Avaliação da microdureza de superfície, rugosidade, perfilometria.....	87
4.4.7.1 Determinação da microdureza superficial.....	87
4.4.7.2 Determinação da rugosidade superficial.....	89
4.4.7.3 Determinação do desgaste.....	92
4.4.8 Análise Estatística	93
5 RESULTADOS	97
6 DISCUSSÃO	119
6.1 Estudo <i>In Vitro</i>	120
6.2 Estudo <i>In Situ</i>	124
6.2.1 Delineamento.....	124
6.2.1.1 Considerações sobre os voluntários e o protocolo de pesquisa	127
6.2.1.2 Considerações sobre o uso do Ferro	134
6.2.2 Metodologia e Resultados.....	136
6.2.2.1 Considerações sobre o substrato dentário	141
6.2.2.2 Considerações sobre Métodos Preventivos	146
6.2.2.3 Prevenção e Controle do uso do FeSO ₄	148
7 CONCLUSÕES	151
ANEXOS.....	153
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	181
ABSTRACT.....	209

Lista de Figuras

FIGURA 1- Dosagem de fósforo de acordo com o método de FISKE; SUBBAROW.....	55
FIGURA 2- Fluxograma da etapa <i>in vitro</i>	64
FIGURA 3- Esquema dos períodos da etapa <i>in situ</i>	68
FIGURA 4- Aparelho contendo doze blocos de dentes humanos.....	71
FIGURA 5- Fluxograma da etapa <i>in situ</i> , sem o uso do bochecho.....	72
FIGURA 6- Fluxograma da etapa <i>in situ</i> , com o uso do bochecho.....	73
FIGURA 7- Procedimentos experimentais durante a etapa <i>in situ</i>	84
FIGURA 8- Perfil de rugosidade do espécime antes do desafio erosivo (lado controle).....	91
FIGURA 9- Perfil de rugosidade superficial do espécime após desafio erosivo (lado experimental).....	91
FIGURA 10- Ilustração esquemática mostrando o desgaste dos espécimes testados. (A) início da leitura feita pelo rugosímetro; (B) final da leitura e (d) desgaste ocasionado pela erosão.....	93
FIGURA 11- Dispositivo intrabucal palatino.....	95
FIGURA 12- Microdurômetro acoplado ao computador.....	95
FIGURA 13- Endentação em esmalte antes do desafio erosivo.....	95
FIGURA 14- Rugosímetro Hommel Tester T 1000.....	95
FIGURA 15- Medição do desgaste.....	95
FIGURA 16- Gráfico do perfil no computador.....	95
FIGURA 17- Endentação do esmalte hígido, observa-se a lisura da superfície e o tamanho da endentação.....	101

FIGURA 18- Endentação de um espécime de esmalte após a condição erosiva do grupo SB. Observa-se a alteração da superfície e o tamanho da endentação.....	102
FIGURA 19- Perda de dureza em esmalte, sob as três condições experimentais.....	105
FIGURA 20- Perda de dureza em dentina, sob as três condições experimentais.....	106
FIGURA 21- Análise de variância a 3 critérios para microdureza superficial: 1=SB e CB; 2=Esm/Dent, 3=ero/1min/30min.....	107
FIGURA 22- Variação da rugosidade superficial em esmalte (μm) das três condições testadas após desafio erosivo.....	110
FIGURA 23- Variação da rugosidade superficial em dentina (μm) das três condições testadas após desafio erosivo.....	110
FIGURA 24- Análise de variância a 3 critérios para rugosidade superficial: 1=SB e CB; 2=Esm/Dent; 3=ero/1min/30min.....	111
FIGURA 25- Desgaste médio (μm) em esmalte, observado em todos os grupos, com e sem bochecho.....	115
FIGURA 26- Desgaste médio (μm) em dentina, observado em todos os grupos, com e sem bochecho.....	115
FIGURA 27- Análise de variância a 3 critérios para desgaste: 1=SB e CB; 2=Esm/Dent, 3=ero/1min/30min.....	116
FIGURA 28- Ilustração esquemática do processo de filtragem automática realizada pelo Rugosímetro em qualquer tipo de superfície.....	139
FIGURA 29- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, após a ação do bochecho com solução de FeSO_4 ..	160

FIGURA 30- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4	162
FIGURA 31- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, após ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	164
FIGURA 32- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	166

Lista de Tabelas

TABELA 1- Média (dP) das quatro variáveis analisadas nos refrigerantes (concentração de flúor e fosfato, capacidade tampão e pH).....	99
TABELA 2- Alteração nos valores da microdureza superficial (dP) durante o experimento <i>in vitro</i> , para os diferentes refrigerantes.....	100
TABELA 3- Coeficiente de correlação de Pearson para todos os grupos, relacionando a %PDS a outras variáveis de estudo.....	100
TABELA 4- Perda média de dureza superficial (%) do esmalte ($\pm$ dP), submetido ou não ao bochecho com a solução de FeSO ₄ a 10 mmol/L nas 3 condições experimentais.....	103
TABELA 5- Perda média de dureza superficial (%) da dentina ($\pm$ dP), submetida ou não ao bochecho com a solução de FeSO ₄ a 10 mmol/L nas 3 condições experimentais.....	104
TABELA 6- Teste de Tukey (3 critérios) para esmalte/dentina, sob as três condições (123).....	107
TABELA 7- Rugosidade superficial (μ m) do esmalte ($\pm$ dP), submetido ou não ao bochecho com FeSO ₄ 10 mmol/L nas 3 condições experimentais.....	109
TABELA 8- Rugosidade superficial (μ m) da dentina ($\pm$ dP), submetida ou não ao bochecho com FeSO ₄ 10 mmol/L nas 3 condições experimentais.....	109
TABELA 9- Teste de Tukey para esmalte/dentina, sob as três condições experimentais (123).....	112

TABELA 10- O desgaste (μm) do esmalte ($\pm\text{dP}$), submetido ou não ao bochecho com FeSO_4 10 mmol/L nas 3 condições experimentais.....	114
TABELA 11- O desgaste (μm) da dentina ($\pm\text{dP}$), submetida ou não ao bochecho com FeSO_4 10 mmol/L nas 3 condições experimentais.....	114
TABELA 12- Teste de Tukey para SB e CB, sob as três condições experimentais (123).....	117
TABELA 13- Teste de Tukey para esmalte e dentina em relação ao desgaste (μm), sob as três condições experimentais (123).....	117
TABELA 14- Valores do fluxo salivar estimulado e não estimulado (mL/min) de cada voluntário.....	158
TABELA 15- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	159
TABELA 16- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, após ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	161
TABELA 17- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4	163
TABELA 18- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, após a ação do bochecho com solução de FeSO_4	165
TABELA 19- Análise Variância a 2 critérios para % de perda de dureza superficial em esmalte: 1- Grupo (SB e CB); 2-123 (Erosão, 1 Min, 30 Min).....	167

TABELA 20- Análise de variância a 2 critérios para % de perda de dureza superficial em dentina: 1-Grupo (SB e CB); 2-123 (Erosão, 1 Min, 30 Min).....	168
TABELA 21- Teste de Tukey ($p<0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator erosão.....	168
TABELA 22- Teste de Tukey ($p<0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator erosão/abrasão 1 Min.....	169
TABELA 23- Teste de Tukey ($p<0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator erosão/abrasão 30 Min.....	169
TABELA 24- Teste de Tukey ($p<0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator sem bochecho.....	170
TABELA 25- Teste de Tukey ($p<0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator com bochecho.....	170
TABELA 26- Análise de variância a 2 critérios para rugosidade superficial em esmalte:1-Grupo (SB e CB); 2-123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)....	171
TABELA 27- Análise de Variância a 2 critérios para rugosidade superficial em dentina: 1-Grupo (SB e CB); 2- 123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)...	171
TABELA 28- Teste de Tukey ($p<0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator erosão.....	172

TABELA 29- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator erosão e abrasão após 1 minutos.....	172
TABELA 30- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator erosão e abrasão após 30 minutos.....	173
TABELA 31- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator sem bochecho.....	173
TABELA 32- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator com bochecho.....	174
TABELA 33- Desgaste (μm) dos espécimes de esmalte, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	175
TABELA 34- Desgaste (μm) dos espécimes de esmalte, com ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	176
TABELA 35- Desgaste (μm) dos espécimes de dentina, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	177
TABELA 36- Desgaste (μm) dos espécimes de dentina, com ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário.....	178
TABELA 37- Análise de variância a 2 critérios para desgaste em esmalte: 1- Grupo (SB e CB); 2- 123 (Erosão, 1 Min, 30 Min).....	179
TABELA 38- Análise de variância a 2 critérios para desgaste em dentina: 1- Grupo (SB e CB); 2- 123 (Erosão, 1 Min, 30 Min).....	179
TABELA 39- Teste de Tukey ($\alpha < 0,05$) com variável dependente de desgaste da dentina considerando os três fatores (Erosão, 1 Min, 30 Min).....	180

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

%= por cento

>= maior

<= menor

C= constante aplicada na fórmula para o cálculo da dureza Knoop

c= carga usada no microdurômetro

d= comprimento da diagonal maior da endentação

dP= desvio padrão

g= gramas

Ca = cálcio

CaF₂ = fluoreto de cálcio

dd = dentes decíduos

DP = dentes permanentes

In Situ (latim)= em sítio, no local (no caso, na boca)

In Vitro (latim)= em laboratório

In vivo (latim)= em seres vivos

KHN= número de dureza de Knoop

L= litro

M= molar

mL= mililitros

mm= milímetros

mL/min= mililitros por minutos

s= segundos

Min= minutos

h= horas

mM= milimolar

°C= graus centígrados

p= nível de significância, probabilidade

pH= potencial hidrogeniônico

ppm= parte por milhão

rpm= rotações por minuto

μm= micrômetro

MEV= Microscopia Eletrônica de varredura

% PDS= porcentagem de perda de dureza superficial

SB= sem bochecho

CB= com bochecho

D= dentina

E= esmalte

Eros= erosão

1 Min= 1 minuto

30 Min= 30 minutos

TiF₄ = tetrafluoreto de titânio

TISAB = total ionic strength adjustment buffer

mmol/L= milimoles por litro

x/dia = vezes por dia

NaOH = hidróxido de sódio

HCL = ácido clorídrico

P=fósforo

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
Baurão

Resumo

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in situ* a ação do bochecho com solução de sulfato ferroso para reduzir a ação erosiva e o efeito sinérgico entre erosão e abrasão, em espécimes de esmalte e de dentina humanos, quando expostos a um refrigerante (Coca-cola®). O estudo foi realizado em duas fases cruzadas, de 5 dias cada (SB- sem e CB- com bochecho), na qual 10 voluntários utilizaram placas palatinas com 6 blocos de esmalte e 6 de dentina, distribuídos em três fileiras horizontais contendo 4 blocos, correspondendo aos grupos: erosão (Eros); erosão + abrasão (1 Min) e após 30 minutos (30 Min). Os dispositivos foram imersos 4 x/dia, por 5 minutos na bebida. O dispositivo foi colocado na boca por 1 minuto com ou sem o bochecho, dependendo da etapa. Em seguida os voluntários escovaram com dentifrício fluoretado 4 espécimes de uma das fileiras indicada como 1 Min, e recolocaram o aparelho. Depois de 30 minutos escovaram mais 4 espécimes de outra fileira indicada como 30 Min e nada realizaram na fileira restante (Eros). A análise foi realizada por meio de teste de microdureza (%PDS), rugosidade superficial (μm) e perfilometria (μm). Foram aplicados os testes ANOVA e Tukey ($p < 0,05$). A %PDS, a rugosidade e o desgaste em esmalte foram: SB Eros (-80,80%, -0,077 μm , 9,30 μm); SB 1Min (-76,05%, 0,024 μm , 10,70 μm); SB 30Min (-70,79%, -0,160 μm ,

10,82 μ m); CB Eros (-68,37%, -0,190 μ m, 8,56 μ m); CB 1 Min (-69,90%, 0,053 μ m, 7,13 μ m); CB 30 Min (-68,31%, -0,136 μ m, 6,81 μ m), respectivamente. Para dentina: SB Eros (-46,09%, -0,050 μ m, 8,03 μ m); SB 1Min (-35,07%, 0,011 μ m, 6,75 μ m); SB 30Min (-40,30%, -0,298 μ m, 6,13 μ m); CB Eros (-41,66%, -0,042 μ m, 5,12 μ m); CB 1 Min (-41,18%, 0,043 μ m, 5,68 μ m); CB 30 Min (-40,06%, -0,030 μ m, 3,41 μ m), respectivamente. O uso do bochecho propiciou redução significativa na %PDS para o esmalte quando comparado à condição sem bochecho, além de desgaste significativamente menor em dentina, independente da situação de erosão. O esmalte apresentou maior desgaste que a dentina, independente das condições experimentais. Concluiu-se que o bochecho com a solução de FeSO₄ foi capaz de minimizar a erosão dentária após o uso do refrigerante e reduzir o efeito sinérgico entre erosão e abrasão tanto em esmalte quanto em dentina humanos.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
Baurão

1

Introdução

1 Introdução

Se por um lado a Odontologia tem proporcionado uma redução na perda de dentes causada por cáries, por outro lado, a vida mais longa dos dentes tem acarretado em aumento na ocorrência de lesões não cariosas. A exposição dentinária em lesões cervicais tem sido relatada como uma queixa comum entre os adultos, apresentando-se como um dos problemas crônicos dolorosos e resistentes ao tratamento¹⁴¹.

BRACKETT²³, em 1994 investigou a etiologia e o tratamento das lesões cervicais. O autor afirmou que são muitas as teorias com referência a etiologia destas lesões, assim como os nomes dados a elas. Entretanto, nenhum fator explicava adequadamente a formação das lesões cervicais não cariosas. Considerou também que a escovação traumática e a recessão gengival mais aceleram que causam a lesão cervical.

PEREIRA¹⁴¹, em 1995 relacionou a etiologia das lesões cervicais não cariosas. O autor afirmou que o fator etiológico primário das lesões é a tensão provocada pela mastigação e maloclusão. A tensão criada durante a flexão do dente, rompe as ligações químicas das estruturas cristalinas do esmalte e da dentina. Pequenas moléculas penetram entre os cristais, prevenindo o restabelecimento das ligações químicas. Como resultado, a estrutura dentária estará mais susceptível à dissolução e abrasão, resultando

em uma lesão cervical típica. Descreveu também várias teorias para explicar o mecanismo da sensibilidade dentária, sendo a hidrodinâmica a teoria mais aceita; já para as lesões cervicais não cariosas (abrasão, erosão, abfração ou atrição) relaciona a etiologia multifatorial, e ressalta a importância de reduzir a quantidade e a frequência de ingestão de alimentos ácidos, de se empregar melhores técnicas de escovação com escovas e dentifrícios apropriados e procurar tratamento médico nos casos de doenças sistêmicas com reflexo no meio bucal, especialmente, relacionadas com a redução do fluxo salivar e aumento da acidez.

A erosão dentária tem sido definida como a perda de estrutura dentária superficial devido a um processo químico, provocado por ácidos ou quelantes, sem envolvimento de microrganismos, desencadeado por fatores intrínsecos (anorexia, bulimia, problemas gastresofágicos, xerostomia) e extrínsecos (alimentos, bebidas, produtos ácidos, contaminação ácida no meio ambiente) ¹⁰³.

A incidência desta lesão tem aumentado nos últimos anos, pois as pessoas estão consumindo mais produtos industrializados, como alimentos e bebidas prontas, os quais apresentam constituintes ácidos ¹⁰³.

Tendo em vista o aumento no consumo de bebidas ácidas, e que este leva a ocorrência da erosão dentária, torna-se relevante a realização de estudos a respeito dos mecanismos de ação destas bebidas sobre a estrutura dentária, para instalação de protocolos preventivos desde a infância ¹⁵⁴.

Diferentes estudos vêm sendo realizados desde 1910⁶⁸ a respeito da erosão sobre os tecidos dentários. Recentemente, as pesquisas buscaram correlacionar a ação de bebidas ácidas sobre o dente¹⁵¹, e se a saliva influencia o processo^{50,75}.

As bebidas mais testadas são os sucos de frutas, os refrigerantes e as bebidas energéticas utilizadas por esportistas (isotônicos). Existem estudos que avaliam a capacidade erosiva destas bebidas através do pH, capacidade tampão, tipo de ácido, dissociação iônica do ácido e concentração de cálcio, fósforo e flúor^{103,114}. Assim sendo, é necessária a formulação de pesquisas que trabalhem com a diminuição do potencial erosivo destas bebidas, para minimizar o risco associado ao alto consumo de ou estudar medidas capazes de aumentar a resistência do hospedeiro.

Existem vários modelos e métodos para determinação da erosividade de uma bebida. Muitos parâmetros de análise não estão diretamente relacionados aos efeitos clínicos¹⁴⁸. Para suprir a necessidade de avaliação clínica, métodos *in situ* e *in vitro* têm sido preconizados^{13, 50}, a partir dos quais realizam-se testes quantitativos (microdureza, teste de permeabilidade, micro-radiografia, perfilometria) e qualitativos (microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz polarizada) para analisar os efeitos das bebidas sobre espécimes humanos e bovinos^{114,115}.

No entanto, os métodos de avaliação *in vitro* a respeito do potencial erosivo de bebidas deixam a desejar, muitos questionamentos são aventados

quanto à ação da saliva em reverter ou não o processo, o que dificulta a extrapolação dos resultados para a condição *in vivo*^{103,115,148,175}.

Os estudos *in situ* parecem permitir um certo controle de variáveis, analisando a ação de fatores salivares (volume, pH, capacidade tampão) frente ao processo erosivo, sem ao mesmo tempo, expor o sujeito da pesquisa à ocorrência destas lesões.

A susceptibilidade individual ao desgaste dentário tem forte ligação com as características salivares do indivíduo, pois a saliva apresenta um importante papel na prevenção de lesões de abrasão/erosão. Alguns fatores como o fluxo salivar, a capacidade tampão, a supersaturação de íons cálcio e fosfato, a película adquirida e a propriedade de lubrificação, podem atuar nos fenômenos erosivos, diminuindo a desmineralização e favorecendo a remineralização da superfície dentária^{7,8,61,62,63,107,116,137,174}.

A literatura científica pouco descreve da associação entre a erosão e a abrasão, resultante da escovação após o desafio ácido, sugerindo a ocorrência de um efeito sinérgico, potencializando ou acelerando a evolução da lesão não cariosa⁸¹. Deste modo, tem-se preocupado com medidas que possam minimizar o efeito sinérgico entre erosão e abrasão, como a aplicação de flúor por meio de bochechos, géis e vernizes, antes ou após o ataque erosivo aumentando a resistência à abrasão e diminuindo a progressão da erosão. Em particular, a erosão que atinge a dentina pode ser

tratada mais eficientemente que o esmalte através do uso de agentes tópicos fluoretados de alta concentração^{53,177}.

Estudos têm sugerido que íons metálicos, especialmente o ferro, possuem propriedades anticariogênicas. BROOKES et al.²⁶, em 2004, utilizaram um modelo abiótico para estudar o efeito do FeSO_4 na inibição da desmineralização de hidroxiapatita sintética submetida a uma solução de ácido acético, num modelo que lembra a erosão dentária. Os resultados mostraram que o FeSO_4 inibiu significativamente a dissolução da hidroxiapatita sintética.

Deste modo, seria interessante avaliar se o FeSO_4 poderia ter algum efeito na redução da ação erosiva e no efeito sinérgico entre erosão e abrasão.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
BAURUR

2

*Revisão de
Literatura*

2 Revisão de Literatura

Enquanto a cárie dentária está declinando em vários países¹⁴², outras lesões dentárias, como as lesões não cariosas, estão começando a ganhar grande relevância entre os problemas bucais¹³⁰. O desgaste dentário é um processo cumulativo ao longo da vida, o qual pode causar grandes perdas na superfície dentária¹⁰⁶.

2.1 Estudos de prevalência de erosão dentária

Estudos de prevalência e incidência são fundamentais para evidências epidemiológicas, pois identificam a presença da patologia em uma amostra capaz de representar a população¹²⁹. Esses estudos têm sido conduzidos demonstrando a porcentagem individual afetada pela erosão ou sua prevalência entre vários grupos etários^{3,4,20,38,66,102,121,132}. No entanto, há uma grande dificuldade de comparação entre os estudos existentes, pois são utilizados diferentes índices e dentes diferentes são examinados^{20,38,66,102,121,132}.

Mensurar o desgaste dentário é muito difícil, sendo que algum desgaste pode ocorrer ao longo da vida, e não há um índice aceito

universalmente. SMITH; KNIGHT¹⁵³, em 1984, idealizaram um índice de desgaste dentário (tooth wear index-TWI), o qual se propõe a mensurar os níveis de desgastes individuais e coletivos. O TWI ou modificações têm sido utilizados em um grande número de pesquisas^{3,4,5,10,20,70,85,121,123,152,155,178}, podendo ser sugerido como índice padrão, apesar de haver controvérsias quando ele é aplicado para populações⁴⁰.

LUSSI et al.¹⁰², em 1991, conduziram um estudo na Suíça, com uma amostra constituída por 391 indivíduos selecionados de forma aleatória, com idade entre 26 a 30 anos e 45 a 50 anos. A pesquisa mensurou a prevalência e a severidade, sendo que para a faixa etária 26-30 anos o percentual de dentes afetados foi de 30% e para 45-50 anos 42,6%.

MOSS¹²⁴, NUNN¹²⁹ e IMFELD⁸⁰ afirmaram que não há um estudo epidemiológico representativo da prevalência da erosão, talvez pela dificuldade de diagnóstico. Conseqüentemente, faltam trabalhos esclarecedores em seres humanos correlacionando prevalência com outros fatores causais da erosão, a fim de esclarecer sua complexa etiologia¹²⁴.

2.2 Efeito erosivo de bebidas sobre a superfície dentária

As evidências baseadas em estudos de relatos de caso, ensaios clínicos, epidemiológicos, coortes e animais, *in vitro* e *in vivo*, descrevem que

o ácido que pode causar erosão dentária é de origem gástrica, alimentar ou origem ambiental^{9,165}.

LUSSI; JAEGGI; ZERO¹⁰⁷, em 2004, afirmaram que o processo erosivo pode ser dividido em dois estágios. Um inicial, com o amolecimento da superfície envolvida, a qual é parcialmente desmineralizada. Neste estágio do processo, a remineralização é teoricamente possível, com a manutenção do tecido podendo atuar como um suporte. E em segundo lugar, em estágio mais avançado, o mineral mais externo ao esmalte é totalmente perdido e não existe possibilidade de reparo. Enquanto permanecer a camada amolecida de esmalte mais abaixo da perda de tecido duro, esta poderá ser remineralizada.

Muitas pesquisas têm objetivado investigar a erosão dentária e descobrir qual o efeito das bebidas ácidas sobre o dente, em quais condições isto ocorre e se a saliva tem influência no processo^{114,154,175,176}. As bebidas mais testadas são sucos de frutas, refrigerantes, chás e bebidas do esporte (isotônicos).

A capacidade erosiva destas bebidas foi analisada por meio da mensuração do pH, capacidade tampão, tipo de ácido, dissociação iônica do ácido e concentração de cálcio, fósforo e flúor presentes¹⁰³. O pH dessas bebidas varia entre 2,16 e 3,73, isto é, abaixo do pH crítico para a fluorapatita e a hidroxiapatita^{27,30,42,156}.

A ação de bebidas erosivas na superfície dentária foi investigada por MEURMAN; FRANK¹¹⁵, bem como sua extensão nos tecidos dentários. Os autores demonstraram que os ácidos erosivos podem expor estruturas internas de dentina com o alargamento significativo dos túbulos dentinários, o que poderia explicar a sensibilidade dolorosa dos dentes afetados pela erosão. As lesões erosivas mostram um padrão no qual a zona desmineralizada pela lesão da erosão pode ser detectada na camada subjacente amolecida, observada em muitos estágios precoces de lesão de cárie incipiente.

A partir de um modelo *in vitro* LUSSI; JAEGGI; JAEGGI-SCHARER¹⁰⁴ avaliaram-se blocos de esmalte humano, os quais foram imersos em 14 bebidas durante 20 minutos. As bebidas testadas foram suco de maçã, Schweppes®, Orangina (refrigerante), suco de uva, Isostar Laranja (refrigerante), Rivella (refrigerante), Sinalco (refrigerante), Citrus Light Api (refrigerante), Sprite®, Fanta Laranja®, Veltliner (vinho), suco de laranja, Fendant (vinho) e Carlsberg (cerveja). A análise da erosão foi realizada por meio da perda de dureza, pela concentração de fósforo, flúor, capacidade tampão e pH das bebidas. Maior perda de dureza foi encontrada no suco de maçã, seguido pela Schweppes, Orangina e suco de uva. Maior concentração de fósforo foi encontrada na cerveja Carlsberg (7,33 mmol/L) e a menor na Schweppes® (0,002 mmol/L). A concentração de flúor variou entre 0,03 ppm (Sinalco) e 0,28 ppm (Carlsberg). Já o pH variou entre 2,47

(Schweppes) e 4,43 (Carlsberg). As bebidas que apresentaram maior capacidade tampão foram o suco de laranja, Schweppes®, Fanta® e suco de maçã. Concluíram que as análises químicas das bebidas são de grande relevância para a investigação da erosão dentária.

LARSEN; NYVAD⁹⁵, em 1999, avaliaram pH, concentração de cálcio, fosfato e flúor e a capacidade tampão, de 18 bebidas comparando com a habilidade destas em dissolver esmalte humano *in vitro*. Dentre as bebidas testadas estavam a Schweppes® Indian Tonica, Schweppes® de Uva seca, Fanta Laranja, Sprite Light®, Coca-Cola®, Pepsi Cola®, Seven Up®, Suco de Laranja, Suco de Laranja com cálcio, Carlsberg Kurvand limão citrus, Carlsberg Kurvand, Tuborg Blue limão citrus, Tuborg Blue Especial, água mineral limão citrus, água mineral, Apollinaris limão citrus, Maarum, Apollinaris e água destilada. A habilidade em dissolver o esmalte foi avaliada através da imersão de 54 blocos de esmalte humano (3 x 4 mm²) em 2 mL das bebidas, sob agitação, durante 24h ou 1 semana. Após a exposição, os dentes foram seccionados e o grau de erosão foi quantificado por microrradiografia. As bebidas foram divididas em 3 tipos: a – refrigerantes, b - sucos e c - águas minerais. Os refrigerantes apresentaram menor pH, enquanto os sucos, maior capacidade tampão. Já a água teve pH igual ou acima de 5,0 e baixa capacidade tampão. As bebidas com pH igual ou menor a 4,0 tiveram um incremento no grau de erosão (houve um aumento na solubilidade da apatita). Exceto para o suco de laranja, a erosão foi

inversamente proporcional ao pH. A capacidade tampão dos 2 sucos de laranja com e sem fosfato de cálcio não diferiu. Quanto maior a capacidade tampão da bebida, maior foi seu efeito erosivo. A Coca-Cola® apresentou 5,7 mmol/L de fosfato. O flúor foi pouco encontrado nas bebidas com exceção da água mineral (1,8 ppm). A quantidade de cálcio e fósforo presente nos refrigerantes não foi capaz de prevenir erosão. A intensidade da erosão progrediu da água mineral para os refrigerantes até chegar aos sucos de laranja.

Diferentes autores afirmaram que a erosão dentária associada ao consumo de bebidas provavelmente resulta da combinação dos ácidos contidos nas formulações. O valor do pH é uma importante variável nas formulações, mas não é necessariamente o único fator. Baseados nisso, HUGHES et al.⁷⁵ mergulharam durante 10 minutos, 5 espécimes de esmalte humano em cada uma das seguintes soluções: ácido láctico, cítrico ou maleico em diferentes concentrações e pH, e mediram o desgaste pelo perfil. Os resultados demonstraram que tanto o pH quanto a concentração ácida são relevantes para ocorrência da erosão, quanto menor o pH e maior a concentração ácida, maior foi a erosão produzida. O ácido láctico em baixos valores de pH foi o mais erosivo e o maleico foi o menos erosivo em altos valores de pH. Os resultados ainda aumentaram o tempo de imersão para 30 minutos e compararam a ação de soluções de ácido cítrico, clorídrico ou fosfórico. O ácido fosfórico, com valor de pH semelhante ao dos outros

ácidos, produziu menor erosão. Sugeriu-se então que as bebidas tipo cola, que normalmente contém 0,1% de ácido fosfórico, podem ser menos erosivas do que as bebidas à base de ácido cítrico. Além disso, as soluções de ácido cítrico apresentam maior capacidade tampão, o que potencialmente aumenta a taxa de erosão em relação às bebidas de cola¹⁷⁶.

No entanto, estes parâmetros não são diretamente relacionados aos efeitos clínicos¹⁴⁸. Para suprir a necessidade de avaliação clínica, métodos *in situ* e *in vitro* têm sido preconizados^{13,50}, a partir dos quais realizam-se testes quantitativos (microdureza, teste de permeabilidade, micro-radiografia, perfilometria) e qualitativos (microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz polarizada)^{114,115}.

LUSSI; JAEGGI; ZERO¹⁰⁷ relacionaram o papel das bebidas e alimentos ácidos para o desenvolvimento da erosão dentária e possíveis fatores correlacionados para essa ocorrência. Os fatores foram divididos em químicos, comportamentais e biológicos. Fatores Químicos: pH e a capacidade tampão dos produtos; tipo de ácido (valores de pK_a); adesividade dos produtos à superfície dentária; propriedades quelantes dos produtos; concentração de cálcio; concentração de fosfato; concentração de flúor. Fatores comportamentais: hábitos alimentares; estilo de vida saudável (dietas ricas em frutas ácidas e vegetais); consumo excessivo de alimentos e bebidas ácidas; hábito de amamentação noturna com bebidas ácidas; práticas de higiene oral. Fatores biológicos: saliva (fluxo salivar, capacidade

tampão, composição); película adquirida (propriedade de difusão e sua espessura); composição e estrutura dentária (conteúdo de flúor nas partículas de fluoridroxiapatita ou CaF_2 – like); anatomia dos tecidos moles em relação ao dente; movimentos fisiológicos dos tecidos moles.

2.3 Ação da saliva na película adquirida

A saliva tem um importante papel na neutralização dos ácidos que provocam erosão, devido à capacidade tampão, ao fluxo salivar¹⁰⁷ e a formação da película adquirida^{34,124}.

RYTOMAA et al.¹⁴⁸ avaliaram a ação de 11 produtos ácidos em blocos de esmalte bovinos associados a remineralização pela saliva. No 1º experimento, os blocos foram imersos em 50 mL de 11 bebidas (5 blocos por bebida) a 37° C, durante 4 horas. No 2º experimento, outros blocos foram imersos em saliva durante 2 horas a 37°C e, em seguida foram imersos em 50 mL de 5 produtos do experimento 1 (18 blocos por bebida) durante 15 minutos e posteriormente em 25 mL de saliva com e sem flúor (9 blocos na saliva sem flúor e 9 na saliva com flúor), durante 2 h, sob agitação. A ciclagem bebida/saliva foi conduzida em 1, 2, 3 e 4 h. Dos 9 blocos, 2 foram retirados após 1, 2, 3 h e 3 blocos após 4 h. Para o experimento 1, a Coca-Cola®, o suco de laranja, a Coca-Cola diet®, a Fanta® e bebidas do esporte foram as mais erosivas, tanto na análise perfilométrica (desgaste) como no microscópio eletrônico de varredura. No experimento 2, o tempo de

exposição à saliva minimizou o grau de erosão e não houve diferença entre os blocos tratados em saliva com ou sem flúor. Em alguns dentes a película foi observada, mas não influenciou na erosão.

O` SULLIVAN; CURZON¹³⁶ investigaram a etiologia da erosão dentária em crianças, correlacionaram o fluxo salivar, capacidade tampão e nível de *S. mutans* e compararam estes parâmetros com os de crianças com e sem cárie. A amostra foi constituída por 106 crianças, tendo 2 grupos controle, um com cárie e outro sem cárie. A saliva estimulada e não estimulada foi coletada no período da manhã e em seguida, mediu-se o pH e capacidade tampão. Houve uma grande variação no fluxo salivar estimulado entre os indivíduos do grupo da erosão justificada em parte pela ampla faixa etária estudada (6 a 16 anos). O pH aumentou com o incremento do fluxo, mas também se apresentou variável. Os resultados demonstraram que quando o pH salivar é menor que 6,5, o individuo tem 5 vezes mais chance de apresentar erosão; já quando a capacidade tampão é baixa (pH entre 4,5 a 5,5), a chance é de 2 vezes mais. Em relação aos *S. mutans*, apesar do grupo erosão ter apresentado maiores números em relação ao grupo cárie, isto foi justificado pela presença destes microorganismos na língua e não na placa dentária.

RIOS¹⁴⁶, em 2004, realizou avaliação *in situ* utilizando chicletes para diminuir o efeito da erosão, associada ou não à abrasão pela escovação. O estudo foi realizado em duas fases de 7 dias (A-sem; B- com chicletes), em

que 9 voluntários utilizaram placas palatinas com 12 blocos (n=6 humanos, n=6 bovinos) distribuídos em três fileiras horizontais contendo 4 blocos , correspondendo aos grupos: erosão por refrigerante tipo cola (ERO), erosão + abrasão imediata (JÁ) e erosão + abrasão mediata após 1 hora (1H). Em ambas as fases, 4 x/dia o aparelho foi imerso na bebida (150 mL) por 5 min. Na fileira ERO nada foi feito, na fileira JÁ realizou-se a escovação imediata com dentifrício fluoretado (15 movimentos). O aparelho foi recolocado na boca, na fase A permaneceu sob a ação do fluxo salivar normal e, na fase B, os voluntários mastigaram chicletes sem sacarose por 30 min. Após 1 h da imersão, em cada fase, foi realizada a escovação mediata (1H). Foram analisados o desgaste (perfilometria) e a % de perda de dureza superficial (%PDS- microdureza superficial). A estimulação salivar pelo chiclete propiciou menores ($p<0,05$) %PDS e desgaste em relação ao fluxo salivar normal.

A saliva, além de exercer seu papel protetor, também contribui para a formação da película adquirida, que apresenta função fundamental no desenvolvimento da erosão¹⁴⁶. A formação da película adquirida foi associada à concentração de uréia na saliva, sendo que quanto maior a concentração de uréia na saliva menor a erosão⁸⁴.

O papel da película adquirida vem sendo demonstrado em diversos estudos. MEURMAN; FRANK¹¹⁵ utilizaram um modelo *in vitro* para investigar o efeito da película adquirida em relação à erosão dentária. Vinte blocos de

esmalte bovino, com a metade protegida (controle) foram imersos em uma bebida ácida à base de cola (pH=2,6) por 120 minutos. Previamente, alguns espécimes foram imersos em um pool de saliva humana por 7 dias para formação da película adquirida. Na amostra total, metade dos espécimes se apresentou polido e a outra metade não polido e, todos foram igualmente divididos entre os grupos com e sem película adquirida. Todos os espécimes foram preparados para análise em MEV. Os espécimes sem película (controle positivo) apresentaram erosão com dissolução generalizada e distinção da margem entre área hígida e erodida. No grupo submetido à saliva, a película foi vista como uma fina camada dispersa, cobrindo parcialmente a superfície. Nos espécimes onde a película foi removida, observou-se uma erosão maior quando comparada ao controle. O esmalte polido apresentou maior erosão em relação ao esmalte não polido. Neste estudo *in vitro* a película adquirida foi capaz de proteger o esmalte subjacente. A proteção do dente contra a erosão pela película adquirida foi demonstrada *in vitro*, mas a hipótese de que a película pode diferenciar quantitativamente o grau de erosão não foi avaliado.

AMAECHI et al.⁶ realizaram um estudo para determinar a espessura da película adquirida dentro dos arcos dentais, analisar a correlação possível desta espessura à distribuição e à severidade da erosão dentro dos arcos, e confirmar o efeito protetor da película frente à erosão dental. Oito blocos do esmalte foram produzidos de cada 5 incisivos bovinos e distribuídos em cinco

voluntários. Cada bloco foi dividido em 2 lados, produzindo um lado controle (protegido) e um experimental. A película formou-se nos blocos experimentais situados em 8 locais intra-orais após 1 hora da exposição. Os blocos foram analisados, e a espessura da película foi medida pela microscopia confocal. As lesões erodidas do esmalte foram produzidas do lado experimental utilizando suco de laranja puro. O grau de erosão foi quantificado pela microradiografia. A espessura da película variou significativamente dentro dos arcos dentais e entre os indivíduos. Uma correlação inversa ($r = -0,96$, $p < 0.001$) foi observada entre o grau de erosão e a espessura da película. Diferenças significantes na erosão foram observadas entre os blocos com e sem película. Este estudo demonstrou que a espessura da película adquirida varia dentro dos arcos dentais, que pode ser responsável pelo local específico da erosão dentária, e que a película protege os dentes da erosão.

2.4 Efeito do íon Ferro na desmineralização

O efeito inibitório de íons metálicos na desmineralização ácida tem sido investigado^{29,117,118,119}. Segundo MENAKER¹¹², a prevalência de cárie dentária está relacionada, basicamente, com três fatores: presença de F na água de abastecimento público, dieta alimentar e presença de elementos traços.

O termo *elemento-traço* tem sido usado para definir metais catiônicos e oxianions que normalmente estão presentes em baixas concentrações no ambiente^{143,158}, embora Al, Fe e Ti, ocorram em concentrações maiores, também sejam tratados como elementos-traço por alguns autores^{87,111}. Este termo tem sido preferido em diversas publicações recentes que tratam desse assunto^{67,87,111,158,161}, em detrimento da expressão metal pesado, a qual nunca foi definida por nenhum órgão oficial na área de química, tendo perdido seu sentido⁴³.

Estudos epidemiológicos *in vivo* e *in vitro* têm demonstrado que os elementos-traço têm uma importante participação no controle da cárie dentária^{17,110}.

O ferro (Fe) tem sido correlacionado tanto com a anemia quanto com a cárie dentária^{137,138}. O mecanismo exato pelo qual o Fe exerce uma ação cariostática não está claramente determinado^{139,140}. As possibilidades incluem: redução da solubilidade do esmalte em ácidos^{117,118,166}; redução da acidogenicidade da placa dentária¹³⁵; efeito bactericida e bacteriostático nos estreptococos mutans^{44,119}; e redução na atividade das glicosiltransferases dos estreptococos mutans^{39,179}.

Considerando o efeito do Fe no biofilme, PECHARKI et al.¹⁴⁰ sugerem que a ação esteja relacionada com a capacidade de interferir especificamente com a contagem de estreptococos mutans, devido à redução significativa dessas populações no biofilme, provocada por alta concentração de Fe.

Mostraram ainda que o ferro é capaz de reduzir *in situ* o potencial cariogêncio da sacarose.

As evidências demonstraram que o Cu^{+2} e o Fe^{+2} podem exercer ação inibitória antibacteriana para cárie dentária¹⁴⁴. Em adição foi investigada a ação do Fe^{+2} e do Cu^{+2} na desmineralização ácida. Os resultados indicaram que o Fe^{+2} pode inibir a desmineralização do mineral afetado diretamente pela dissolução química, e sua efetividade foi duas vezes maior que a do Cu^{+2} . O Fe^{+2} pode permitir a estabilização do mineral na superfície dentária pela substituição iônica ou pela formação de depósitos protetores²⁵.

BROOKES et al.²⁶ realizaram um estudo com o objetivo de caracterizar o Fe^{+2} em relação a sua habilidade em inibir diretamente a desmineralização ácida em um sistema abiótico. Soluções de 10 mmol/L de ácido acético sozinho ou contendo 10 mmol/L CuSO_4 e FeSO_4 foram adicionadas a hidroxiapatita sintética (1 mL/mg). As amostras foram agitadas por 30s e separadas pela centrifugação. A dissolução da hidroxiapatita foi determinada pela medida espectroscópica do fosfato liberado no sobrenadante. Os resultados demonstraram que a dissolução de hidroxiapatita na presença de FeSO_4 e CuSO_4 foi 75% e 51% menor, respectivamente. A inibição observada foi significativa em ambos os casos ($p < 0,05$). Em outro experimento o Fe^{+2} ainda foi capaz de reduzir a perda mineral (hidroxiapatita sintética) em 10% quando presente em uma solução

a 1,24 mmol/L. Os resultados indicaram que o Fe^{+2} foi capaz de inibir a desmineralização afetando a dissolução química mineral diretamente e sua efetividade foi aproximadamente 2 vezes mais o que o Cu^{+2} .

Alguns autores sugeriram que Fe^{+2} e Cu^{+2} inibem a desmineralização por envolver a estabilização das superfícies minerais por meio da substituição heteroiônica ou por meio da formação de depósitos superficiais protetores. Foi sugerida também a necessidade de outros trabalhos que possam avaliar a viabilidade de se usar esses íons terapeuticamente e profilaticamente, para reduzir o potencial erosivo das bebidas ácidas. É possível que este mecanismo envolva a estabilização da superfície mineral por substituição heteroiônica, com o Ca^{+10} , ou pela formação de depósitos protetores na superfície, uma vez que TORELL¹⁶⁶ relatou que os íons Fe precipitam sobre a superfície do esmalte, formando uma cobertura fina ácido-resistente de óxido de ferro hidratado.

MARTINHON et al.¹¹⁰, num estudo *in situ*, observou que o uso do Fe^{+2} a 15 mM reduziu significativamente a porcentagem de perda de dureza superficial e a área de lesão de cárie quando comparado ao grupo controle, numa situação de alto desafio cariogênico. Estes dados sugerem um possível efeito do Fe^{+2} diretamente no esmalte.

No estudo piloto de BUZALAF* foram observadas inibições na desmineralização do pó de esmalte bovino de 44% e 25%, para as concentrações de FeSO_4 de 10 mmol/L e 1,25 mmol/L, respectivamente. A

* BUZALAF, M. A. R. Comunicação Pessoal, 2004

diferença de substrato empregado (pó de esmalte bovino X hidroxiapatita sintética) poderia parcialmente explicar as diferenças no percentual de inibição da desmineralização quando se comparam estes achados com os de BROOKES et al.²⁶.

Os estudos apresentados demonstraram que o Fe^{+2} parece ter um efeito protetor direto contra a dissolução do esmalte, tanto no pó de esmalte como na superfície intacta de esmalte bovino. Entretanto, mais estudos são necessários para esclarecer o mecanismo de ação do Fe^{+2} , bem como se estabelecer o uso clínico desta terapia.

2.5 Estudos *In Vitro*

O efeito *in vitro* de bebidas do esporte (isotônicos) na dissolução da hidroxiapatita (esmalte) foi avaliado por MEURMAN et al.¹¹³. O estudo foi conduzido em 2 etapas. Na primeira etapa, 13 bebidas comerciais e duas experimentais (ácido maleico e ácido cítrico) foram avaliadas. Adicionaram-se 5 mg de hidroxiapatita para cada bebida em tubos plásticos. Os tubos foram agitados em temperatura ambiente. Em seguida, os tubos foram centrifugados e a concentração de cálcio foi mensurada por espectrometria de absorção atômica. Na segunda etapa, três bebidas experimentais (1, 2 e 3) foram testadas, tendo a água como controle negativo e Hart Sport® como controle positivo. Foram utilizados blocos de esmalte bovino os quais foram imersos em 50 mL das bebidas por 5, 30 e 120 minutos, sob agitação. Para

análise quantitativa, utilizaram-se o perfilômetro e o microdurômetro; para análise qualitativa, o microscópio eletrônico de varredura. O resultado da primeira etapa mostrou que a quantidade de cálcio liberado nas bebidas com ácido maleico foi menor que as com ácido cítrico. Em relação à segunda etapa do experimento, as bebidas 1 (ácido maleico), 3 (sem ácido) e 5 (água) não causaram significativa erosão, apenas a bebida 1 mostrou amolecimento do esmalte aos 30 e 120 minutos quando comparada ao controle; já na bebida 2 (ácido cítrico), erosão foi detectada em 120 minutos. A bebida que causou maior perda de estrutura dentária foi a Hart Sport® (Bebida 4). Os autores afirmaram que o tempo de imersão e o tipo de bebida têm efeito significativo na erosão do esmalte, e que as bebidas preparadas são menos erosivas que as comerciais.

LUSSI; JAEGGI; JAEGGI-SCHARER¹⁰³ realizaram um estudo *in vitro*, no qual blocos de esmalte humano (6 mm²) foram imersos durante 20 minutos em 5 mL de bebida, e avaliaram a ação destas sobre a superfície dentária. No grupo 1 testaram-se suco de uva, suco de maçã, suco de laranja; Isostar Fresh; Coca-Cola® e Lactate por meio de testes de microdureza e permeabilidade ao iodo. No grupo 2, Sprite light®; salada de fruta; vinho branco; Perform; iogurt; drinking whey. Foi utilizado para análise somente o teste de microdureza. O maior grau de diminuição da microdureza foi encontrada no Sprite light®, seguido do suco de uva e maçã. O oposto

ocorreu nos grupos do iogurte e drinking whey. Todos os grupos apresentaram maior permeabilidade ao iodo, principalmente o suco de uva.

A ação erosiva de três bebidas sobre o esmalte decíduo foi avaliada por GRANDO et al.⁵⁸. Foram testados Coca-Cola®, Guaraná e suco de limão. Utilizaram-se 108 dentes decíduos que foram divididos em 3 grupos de 36 dentes, os quais foram cortados em blocos e expostos a 20 mL das bebidas em temperatura ambiente sob agitação, durante 15 minutos, 45 minutos e 12 horas. Os espécimes foram analisados por estereomicroscópio (20x) e microscopia eletrônica de varredura. A microscopia mostrou perda irregular de esmalte e alterações de cor e lisura em todos os blocos. No microscópio eletrônico de varredura, a erosão mostrou-se mais agressiva e uniforme com o maior tempo de exposição à bebida. Todas as bebidas mostraram potencial erosivo em dentes decíduos humanos, sendo o suco de limão o mais erosivo e o guaraná o menos.

MAIA; MODESTO¹⁰⁹, em 1996, avaliaram *in vitro*, a partir da microscopia eletrônica de varredura, 40 blocos de esmalte bovino divididos em 2 grupos: 20 blocos hígidos e 20 blocos desmineralizados (expostos a uma solução desmineralizadora durante 60 horas). Estes espécimes foram subdivididos de acordo com a bebida em que seriam imersos, em 6 blocos hígidos e 6 desmineralizados por grupo (Coca-Cola®, suco de limão, suco de laranja), sendo que 2 blocos de cada grupo serviram de controle. Após 40 minutos de imersão, as 3 bebidas produziram alterações superficiais no

esmalte, sendo o suco de limão a bebida mais erosiva. Houve uma potencialização na perda de estrutura no grupo previamente desmineralizado.

JOHANSSON et al.⁸³ investigaram *in vitro* a ação do ácido cítrico em dentes humanos. O estudo foi realizado com 40 dentes decíduos (dd – 20 expostos à água com 1ppm de flúor e 20 expostos à água com 0,3 ppm de flúor) e 20 dentes permanentes (DP) dos quais obtiveram-se blocos de esmalte que foram polidos e avaliados em relação à microdureza inicial. Para cada grupo (dd e DP), um grupo controle foi armazenado em água nos diferentes tempos de exposição. Os blocos foram imersos em 1 mL de solução de ácido cítrico (pH 2,10), a 37° C, durante 5 minutos, sob agitação. Em seguida, a microdureza foi mensurada. Houve uma nova imersão por 10 e 15 minutos. Ao final do experimento, realizaram-se testes de dureza e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que quanto maior o tempo de imersão, maior a perda de dureza. Não houve diferença entre dentes decíduos que foram submetidos, inicialmente ao experimento, à água com 1ppm ou 0,3 ppm de flúor. Os dentes decíduos apresentaram menor dureza em relação aos dentes permanentes, tanto antes como após o experimento.

WEST; HUGHES; ADDY¹⁷⁶ avaliaram o potencial erosivo do ácido cítrico, em diferentes valores de pH, sobre esmalte e dentina comparando com o ácido hidrocloreídrico e fosfórico. Foram utilizados 3^{os} molares dos

quais obtiveram-se 5 espécimes de esmalte e de dentina que foram expostos a soluções ácidas (ácido cítrico, ácido fosfórico e hidrocloreídrico) ajustadas com hidróxido de sódio e citrato trissódico. A dentina foi agitada em 500 mL de solução ácida durante 10 minutos e o esmalte durante 30 minutos, a 35^o C. A perda de estrutura dentária foi mensurada pelo perfilômetro. Os resultados demonstraram que o ácido cítrico causou mais erosão nos dois tipos de tecido, especialmente no esmalte, em relação ao fosfórico, devido ao seu efeito quelante e sua alta capacidade tampão. Além disso, o ácido cítrico causou maior dissolução de tecido que o ácido hidrocloreídrico. Em pH acima de 3, houve uma diminuição na erosão em todas as bebidas, exceto para o ácido cítrico. Estes resultados podem simular o que ocorre na boca quando se consome bebidas ácidas.

BURATO et al.³⁰ avaliaram o potencial erosivo de 14 bebidas isotônicas. Inicialmente, mensurou-se o pH para selecionar 2 bebidas. Foram então escolhidas as bebidas com pH mais alto (Bebida A – Sport Ade, sabor uva, pH 3,38) e pH mais baixo (Bebida B – Gatorade, sabor lemon ice, pH 2,92). Em seguida, realizou-se o estudo *in vitro*. Foram utilizados 16 molares decíduos e 10 pré-molares seccionados em blocos, totalizando 52 espécimes distribuídos dentro dos grupos A e B. A imersão nas bebidas ocorreu durante 15 minutos, sob agitação e em temperatura ambiente. Após o experimento, realizaram-se avaliações macroscópicas e de microdureza de superfície. Todas as bebidas tinham pH abaixo do crítico e continham ácido cítrico. Após

o experimento, os blocos apresentaram perda de brilho superficial e lisura, caracterizando uma desmineralização. A perda de dureza foi de 42,7 a 52,5% para os dentes decíduos e de 42,5 a 46,8% para os dentes permanentes. Os dentes decíduos apresentaram menor dureza, tanto para superfície controle como para a superfície teste em relação aos dentes permanentes. A bebida que apresentou menor pH foi a mais erosiva, mas sem diferença estatística com a outra bebida testada.

A erosão causada por ácido cítrico foi avaliada *in vitro*, por NEKRASHEVYCH; STÖSSER¹²⁵, utilizando diferentes métodos. Os autores estudaram o potencial protetor de uma película adquirida experimentalmente formada (24 horas). Foram utilizados 120 espécimes bovinos, os quais tiveram uma metade imersa em um *pool* de saliva estimulada, para a formação da película adquirida. Em seguida 10 blocos com película e 10 sem película foram imersos em 5 mL de ácido cítrico a 0,1% ou 1% por 1,5 ou 10 minutos, formando 12 subgrupos. A microdureza final foi realizada e 1 mL do ácido cítrico, após a imersão dos espécimes, foi utilizado para determinar a quantidade de cálcio por meio de espectroscópio de absorção atômica. Um segundo experimento foi realizado em 20 espécimes, com e sem película adquirida, submetendo-os a 1 minuto de erosão (0,1% ou 1% de ácido cítrico). A perda da dureza foi dependente do tempo e da concentração da solução. A película adquirida inibiu significativamente a perda de microdureza, exceto após 10 minutos de imersão em 1% de ácido cítrico. No

entanto, não houve diferença estatisticamente significativa quanto à liberação de cálcio, entre os espécimes com e sem película adquirida.

2.6 Estudos *In Situ*

Os modelos *in situ* buscam criar condições definidas dentro da boca e que simulem o fenômeno em estudo¹⁸³. A situação laboratorial altamente controlada da avaliação *in vitro* a respeito do potencial erosivo de bebidas deixa a desejar, além de não considerar o poder da saliva em reverter ou não o processo. Estes fatores dificultam a extrapolação dos resultados para a condição *in vivo*^{115,148,183}.

O modelo *in situ* tem sido desenvolvido para mensurar uma variedade de fenômenos que ocorrem na boca incluindo erosão na dentina e no esmalte causada por refrigerantes^{74,77,174,175}.

Os primeiros estudos *in situ* relacionados à erosão foram de rápida duração e simularam apenas um ataque erosivo. GEDALIA et al.⁵⁶, em 1991, investigaram *in situ* o efeito remineralizador da saliva e do leite bovino, sobre o esmalte humano previamente erodido por bebida ácida. Os autores relataram que não houve diferença estatisticamente significativa entre a média de dureza inicial e a dureza final após o esmalte remineralizado pelo leite ou saliva. Concluíram que a saliva tem habilidade em remineralizar superfícies de esmalte erodido. No entanto, neste estudo ela foi menos eficiente do que o leite.

Tendo em vista que a determinação da ação salivar está relacionada ao seu fluxo e composição, e estas propriedades variam dentro da cavidade bucal e entre indivíduos. Um estudo *in situ* foi proposto por AMAECHI; HIGHAM⁸ para avaliar a capacidade de remineralização da saliva no esmalte submetido à erosão, localizado em diferentes locais da boca e em diferentes indivíduos. Os espécimes, obtidos a partir de pré-molares humanos, foram imersos por uma hora em suco de laranja, para provocar erosão. Posteriormente, em cada um dos 10 voluntários, foi fixado um espécime na palatina do incisivo lateral superior direito e outro espécime na lingual do incisivo lateral inferior direito. O grupo controle foi composto por espécimes desmineralizados que permaneceram fora da boca. Durante 28 dias, os voluntários mastigaram chiclete por 20 minutos, quatro vezes ao dia. A perda mineral e a profundidade da lesão, quantificadas utilizando microradiografias, foram significativamente menores, para o grupo dos espécimes posicionados por palatino ($p < 0,001$) e por lingual quando comparado ao grupo controle e, para o grupo posicionado por lingual, quando comparado ao grupo posicionado por palatino ($p < 0,001$). Os autores observaram que na lesão de erosão havia uma cratera e uma desmineralização subsuperficial do esmalte. Concluíram que a saliva foi capaz de remineralizar a erosão inicial do esmalte e o grau de remineralização variou de acordo com o local intrabucal, sendo que esta variação pode ser responsável pela diferença de susceptibilidade à erosão dentro do arco dentário.

HARA et al.⁶⁴ avaliaram *in situ* o efeito do tempo de exposição salivar na resistência abrasiva da dentina erodida. Cento e vinte espécimes de dentina, da raiz de dente bovino, foram aleatoriamente distribuídos em 6 grupos (A-F) e posicionados em placas palatinas utilizadas por 10 voluntários, durante 4 dias. No primeiro dia não foram realizados procedimentos de erosão/abrasão, o aparelho foi utilizado para formação da película adquirida. Nos três dias seguintes o desafio erosivo foi realizado duas vezes ao dia, fora da boca, pela imersão do dispositivo intrabucal em 50 mL de um refrigerante (Sprite light®), por 90 segundos. Em seguida, os espécimes do grupo A foram imediatamente escovados manualmente com dentífrico fluoretado (1.500 ppm F) realizando 40 movimentos de ir e vir. Os outros grupos foram escovados da mesma forma após os seguintes tempos de remineralização pela saliva: B-20 min; C-40 min; e D-60 min. Os espécimes do grupo E sofreram apenas erosão e os grupo F sofreram apenas abrasão pela escovação. O desgaste da dentina foi avaliado por um perfilômetro. Os grupos A-D não apresentaram diferença estatística em relação ao grupo controle E, no entanto, apresentaram maior desgaste quando comparados ao grupo F. Os resultados sugeriram que a exposição à saliva por 60 minutos não reduziu o desgaste da dentina, quando submetida à escovação após erosão.

LUSSI; JAEGGI; ZERO¹⁰⁷ estudaram o pH, a capacidade tampão (pH 5,5 e 7,0) a concentração de cálcio, fósforo e flúor, grau de saturação em

relação a hidroxiapatita e fluorapatita de 33 diferentes bebidas, 2 alimentos e diferentes substâncias, e avaliaram seu potencial erosivo no esmalte humano. Afirmaram que há evidências que bebidas e alimentos ácidos estejam presentes no desenvolvimento da erosão por causas extrínsecas. Entretanto, o pH sozinho da substância alimentar não é preditor do potencial erosivo como outros fatores modificadores do processo erosivo. A interação entre erosão e abrasão (especialmente as práticas de higiene bucal) pode conduzir a direção da manifestação clínica dessa desordem.

RIOS¹⁴⁶ realizou um estudo *in situ* para analisar o efeito erosivo de refrigerante tipo cola no esmalte dentário humano e bovino, associado a diferentes condições de abrasão (escovação imediata/Já ou mediata/1H). Durante dois períodos experimentais cruzados de 7 dias, 9 voluntários utilizaram um dispositivo intrabucal palatino contendo 12 espécimes de esmalte (6 humanos e 6 bovinos). No primeiro período os voluntários imergiram o aparelho no refrigerante e em seguida escovaram com dentífrico fluoretado. No segundo período, repetiram os mesmos procedimentos, mas estimularam o fluxo salivar com chiclete por 30 minutos. Ao final do experimento, o valor do desgaste foi de 2,77 μm para o grupo da erosão e 3,80 μm para o grupo erosão/abrasão. Já em relação à perda de dureza de superfície, o grupo erosão apresentou 91,61% de perda e o grupo erosão/abrasão, 58,77%. Através do teste Tukey, obteve-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,01$). Concluiu-se que a

erosão associada à abrasão proporciona um maior desgaste do esmalte. No entanto, o oposto é verdadeiro para a perda de microdureza.

ATTIN et al.¹⁶ realizaram um estudo *in situ* para avaliar o período de remineralização e a susceptibilidade ao amolecimento da dentina após a abrasão pela escovação. Onze voluntários utilizaram por 21 dias um dispositivo intrabucal contendo 6 espécimes de dentina (A-F). Os blocos foram desmineralizados duas vezes ao dia fora da boca, por imersão em Sprite Light® (pH 2,9) por 90 s. Em seguida os espécimes foram escovados com intervalos de tempo diferentes: A (imediatamente); B-E foram recolocados na boca e aguardaram um período, sendo B (10 min), C (20min), D (30 min) e E (60min). O espécime F não foi escovado (controle). A análise foi realizada por perfilometria. Os valores encontrados foram: A ($23,6 \pm 16,7 \mu\text{m}$); B ($37,9 \pm 29,7 \mu\text{m}$); C ($31,8 \pm 26,5 \mu\text{m}$); D ($18,5 \pm 10,5 \mu\text{m}$); E ($15,3 \pm 11,6 \mu\text{m}$) e F ($12,6 \pm 6,7 \mu\text{m}$). Houve diferença estatisticamente significativa com aumento da perda dentina para os grupos A, B e C quando comparados com o controle ($p < 0,05$). Entretanto, entre os períodos de 30 e 60 minutos não houve diferença em relação ao controle. Os autores concluíram que para proteção da dentina, a escovação deve ser postergada para 30 minutos após a ação erosiva.

Existe um crescente aumento no interesse de pesquisadores, em relação ao desgaste dentário, seja envolvendo abrasão, erosão e até atrição, e seus possíveis fatores etiológicos e métodos preventivos adequados.

O efeito do flúor na progressão da erosão dentária em esmalte e em dentina foi avaliado por um modelo *in situ*, por GANSS et al.⁵⁴. No estudo foram utilizados blocos de esmalte (n=4) e de dentina (n=6), em três tratamentos por um período de cinco dias. Os voluntários utilizaram uma placa palatina, a qual continha os espécimes. Estes eram desmineralizados fora da boca por meio do ácido cítrico (pH=2,3), 6 vezes ao dia por 5 minutos. Foram analisados 2 grupos experimentais: dentifrício fluoretado (SnF₂/Olaflur, 0,14% F⁻) utilizado em 3 vezes ao dia por 5 minutos; dentifrício combinado com solução fluoretada (SnF₂/Olaflur, 0,025% F⁻) e com gel (NaF/Olaflur, 1,25% F⁻), sendo que este substituiu o dentifrício no primeiro e terceiro dia (fluoretação intensiva). Na fase controle não foi realizado o uso do flúor. O flúor foi inserido na boca a partir da escovação dos dentes dos voluntários. A perda mineral (μm) foi determinada por microradiografia. No esmalte, a perda mineral foi 40,7±15,1 μm no grupo controle, 18,3±12,4 μm após dentifrício fluoretado e 5,0±12,2 μm após fluoretação intensiva. Para dentina, 49,0±15,4 μm, 35,0±15,5 μm e 19,8±12,0 μm, respectivamente. Entre todos os grupos as diferenças foram estatisticamente significantes (p<0,001). Os resultados indicaram que a fluoretação intensiva é eficiente na prevenção da perda mineral em esmalte e em dentina sob condições severas de erosão.

2.7 Efeito sinérgico entre erosão e abrasão

A idéia de que a erosão provoca uma perda superficial do esmalte e uma desmineralização subjacente, originou a hipótese de que a abrasão pela escovação poderia desgastar esta superfície alterada até atingir sua remoção¹⁰⁸. A perda substancial do tecido duro do dente pode ocorrer quando o amolecimento é sucedido pelo processo abrasivo, e há evidências que o esmalte erodido por ácido é mais susceptível a abrasão e atrição que o esmalte intacto^{13,14,35,46,81,89}. A erosão não causa apenas uma perda de estrutura, mas também uma desmineralização da camada sub-superficial de esmalte, que fica mais susceptível a distúrbios mecânicos como a escovação⁷⁶.

LUSSI et al.¹⁰⁸ testaram o efeito *in situ* de solução fluoretada na prevenção da abrasão pela escovação do esmalte previamente erodido. Inicialmente, os espécimes de esmalte humano foram imersos em ácido cítrico 0,1 M (pH 3,5) durante 3 minutos. O estudo teve 5 fases nas quais 8 voluntários utilizaram um aparelho intrabucal com 4 espécimes de esmalte: 1 – sem erosão e solução fluoretada; 2 – erosão, sem solução fluoretada; 3 – erosão, com solução fluoretada (250 ppm F) por 30 s; 4 – bochecho com solução fluoretada (250 ppm F), erosão; 5 – erosão, solução experimental de flúor (250 ppm F) por 30 s. O experimento teve duração de 5 dias e as fases *in vitro* e *in situ* foram realizadas, 1x/dia, sob supervisão de examinadores

durante o mesmo horário para todos os voluntários. Após esta fase do experimento, os voluntários permaneciam durante 60 minutos com aparelho e em seguida, escovaram os blocos durante 30 s com dentifrício fluoretado. A perda de estrutura dentária foi determinada pela microdureza de superfície, sendo que o bochecho com solução fluoretada, antes ou depois da erosão, não minimizou a perda de esmalte quando comparado ao grupo sem solução ($p > 0,05$). Conclui-se que apenas um bochecho durante 30 segundos não tem efeito na prevenção da abrasão de esmalte erodido.

Um estudo *in situ* conduzido por TURSSI et al.¹⁶⁷ avaliou a abrasão de esmalte e de dentina erodidos por dentifrício clareador (NaF 0,15%, sílica) em comparação ao dentifrício convencional (MFP 0,15%, sílica e carbonato de cálcio). Para tal, 14 voluntários utilizaram um aparelho intrabucal com 3 espécimes de esmalte e 3 de dentina. O 1º dia de uso do aparelho serviu para a formação da película adquirida. Duas vezes por dia, durante 3 dias, uma área do aparelho foi exposta *in vitro* a Sprite Light®, durante 90 segundos, enquanto a outra área permaneceu intacta. Em seguida, os espécimes foram escovados (40 movimentos) com um dos dentifrícios diluídos em água (1:3). Após 3 dias de descanso, trocaram-se os espécimes e o dentifrício. A bebida proporcionou maior desgaste em relação ao controle. O dentifrício clareador não aumentou significativamente o desgaste do esmalte erodido em comparação ao dentifrício convencional. Já

em relação ao esmalte hígido e a dentina (hígida e erodida), houve diferença estatisticamente significativa. Os resultados sugerem que o dentífrico clareador não aumenta o desgaste do esmalte erodido, mas pode ser prejudicial à dentina.

2.8 Métodos para prevenir erosão dentária

Os métodos propostos por IMFELD⁸⁰ para prevenir a progressão da erosão dentária incluíram diminuição da frequência e severidade do contato com substâncias ácidas; tentativas em melhorar o fluxo salivar, pela adoção de gomas de mascar sem açúcar; tentativas de enfraquecer a influência abrasiva dos produtos de higiene bucal; enxágüe com água após a ingestão de ácidos e a não escovação subsequente, para evitar o atrito mecânico sobre a superfície dentária; diagnóstico e encaminhamento médico dos pacientes com suspeita de erosão dentária decorrente de distúrbios intrínsecos, tais como refluxo gástrico, bulimia e anorexia.

Algumas investigações foram conduzidas com o objetivo de analisar se o flúor poderia exercer influência na desmineralização após um desafio erosivo. LARSEN; RICHARDS⁹⁷, em 2002, compararam a capacidade erosiva de algumas bebidas de frutas, frescas ou saturadas com CaF_2 , com resultados prévios de algumas bebidas carbonatadas. Concluíram que tanto

as bebidas carbonatadas quanto as não carbonatadas, não são apenas erosivas, mas também capazes de dissolver e remover o fluoreto de cálcio depositado pela aplicação tópica de flúor. Mostraram também que o flúor não é capaz de ter um efeito preventivo contra a erosão, tanto incorporado ao esmalte como fluoreto de cálcio, quanto fazendo parte da formulação da bebida.

O flúor é um agente bastante pesquisado na Odontologia, apesar de seu modo de ação no desenvolvimento e a progressão de lesões erosivas, ainda não ter sido totalmente pesquisado.

Em contrapartida, a ação anticárie do flúor tem sido abordada em numerosos estudos. A interação entre o íon flúor e o tecido dentário duro é influenciada pela concentração de flúor, pH e composição de agentes usados na prevenção de cárie.

O problema da erosão está descrito na literatura como um desgaste superficial¹⁶⁸, não abordando o envolvimento da camada subjacente durante o processo erosivo.

Como já foi mencionado, a idéia de que a erosão provoca uma perda superficial do esmalte e uma desmineralização subjacente, originou a hipótese de que a abrasão pela escovação poderia desgastar esta superfície alterada até atingir sua remoção. DAVIS; WINTER³⁵ realizaram um estudo

para quantificar o desgaste do esmalte e da dentina, provocado pela erosão associada à abrasão pela escovação, com água ou dentifrício. Concluíram que o esmalte e a dentina foram perdidos pelo ataque ácido e ocorreu uma desmineralização da superfície restante. Quando esta superfície foi escovada, mesmo com água, provocou um desgaste, até que a zona desmineralizada fosse removida.

A capacidade do dentifrício em diminuir o desgaste do esmalte em situações de erosão associada à abrasão foi investigada, em um estudo *in vitro*, realizado por BARTLETT; SMITH; WILSON¹⁹. Os resultados permitiram concluir que os espécimes submetidos ao dentifrício com flúor apresentaram um desgaste significativamente menor do que os espécimes submetidos ao dentifrício sem flúor.

JAEGGI; LUSSI⁸¹ analisaram diferentes períodos de espera para a realização da escovação, após exposição do esmalte à erosão. Os espécimes obtidos a partir de dentes humanos foram imersos *in vitro* em 20 mL de ácido cítrico, por 3 minutos. Posteriormente foram fixados em uma placa lingual, utilizada durante 0 (escovação imediata), 30 e 60 minutos por cada um dos 7 voluntários. Após estes períodos, os voluntários escovaram os espécimes por 30 segundos com dentifrício, utilizando suas técnicas rotineiras. Todos os grupos apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$). Desta forma, foi indicada a postergação da escovação por uma hora, após a ingestão de alimentos ou bebidas ácidas.

ATTIN et al.¹³ realizaram um estudo *in vitro*, com o objetivo de avaliar o período de remineralização necessário para restabelecer a resistência do esmalte contra a erosão dentária após desmineralização por refrigerante. Os blocos de esmalte dentes bovinos foram submetidos a diferentes ciclos de des-remineralização. Foram divididos em 7 grupos, compostos por 12 espécimes, os quais sofreram 10 ciclos de erosão, sendo desmineralizados por 1 minuto em Sprite Light®. O grupo I não sofreu remineralização em saliva artificial e já foi escovado por 100 ciclos com dentífrico sem flúor. O grupo II teve uma remineralização por 10 minutos em saliva, para depois ser escovado da mesma forma; o grupo III sofreu remineralização por 60 minutos seguido de escovação; o grupo IV foi submetido a remineralização por 240 minutos, seguido de escovação. Já o grupo V sofreu desmineralização e remineralização por 240 minutos sem escovação, o grupo VI foi submetido apenas a desmineralização e o grupo VII apenas à escovação. A menor perda de esmalte foi do grupo VII, a maior foi do grupo I e o esmalte remineralizado por 240 minutos (G IV) não diferiu dos grupos; erosão e remineralização sem escovação (G V) e só erosão (G VI). Os autores concluíram que a resistência à abrasão do esmalte erodido, aumenta com o tempo de remineralização. No entanto, após 1 hora de remineralização, o desgaste do esmalte erodido ainda estava aumentado.

ADDY et al.¹ avaliaram por meio de um estudo *in situ* cruzado, com 2 fases, a abrasão de 2 tipos de dentífrico fluoretado com diferentes graus de

abrasividade (A - RDA = 85 ± 3 , B - RDA = 189 ± 4) sobre blocos de dentina. Para tal, 10 voluntários utilizaram aparelho palatino com 2 espécimes de dentina coronária provenientes de 3^{os} molares. Uma janela de 2 mm² foi exposta, durante 10 dias, a escovação com um dos dentifrícios por 60 s cada espécime, 5 vezes ao dia. Ao 5º e 10º dias, o aparelho foi removido para análise perfilométrica. Houve uma grande variação entre indivíduos. O dentifrício B (2,43 µm) causou 2,5 vezes mais abrasão que o dentifrício A (0,96 µm) no 10º dia. O grau de abrasão ao 10º dia foi maior que ao 5º dia. O método *in situ*, já utilizado em erosão, parece ideal para estudar não apenas a abrasão, bem como a interação desta com outros fatores envolvidos no desgaste dentário tais como a erosão.

HONÓRIO et al.⁷² realizaram um estudo *in situ*, no qual avaliaram o efeito erosivo de um refrigerante (Coca-cola) associado ou não a diferentes condições de abrasão (escovação imediata ou mediata após 1 hora), sobre esmalte humano e bovino. Durante 7 dias, 10 voluntários utilizaram um dispositivo palatino contendo 12 blocos de esmalte (com metade de sua superfície protegida por esmalte cosmético), aleatoriamente selecionados e distribuídos em três fileiras horizontais, cada uma com 4 blocos (2 bovinos e 2 humanos). Os voluntários imergiram os aparelhos 4x/dia em 150 mL da bebida, durante 5 minutos e em seguida escovaram com dentifrício fluoretado 4 blocos de uma das fileiras (JÁ) e recolocaram o aparelho. Após 1 hora escovaram mais 4 blocos de outra fileira (1H) e nada realizaram na

fileira apenas submetida à erosão (ERO). A análise da alteração do esmalte foi realizada por meio de testes de microdureza superficial (cálculo da % de perda de dureza superficial- %PDS) e perfilometria (desgaste- μm). Os resultados (ANOVA e Tukey) mostraram que a %PDS foi maior para o substrato humano (Hum: 73,54% e Bov: 64,49%; $p < 0,05$) e o desgaste maior para o bovino (Bov: 14,38 μm e Hum: 12,32 μm ; $p < 0,05$). Observaram uma %PDS decrescente e um desgaste crescente para as seguintes condições: ERO (88,94%; 6,50 μm), 1H (63,26%; 15,93 μm) e JÁ (54,85%; 17,62 μm). Os resultados sugerem que o esmalte humano é mais resistente à erosão que o esmalte bovino e o desgaste causado pela erosão associada à abrasão pela escovação pode ser diminuído quando esta é postergada.

O uso de flúor gel foi investigado por JONES et al.⁸⁶ para avaliar o potencial em algum grau no controle da erosão dentária de origem endógena. Os resultados demonstraram que a desmineralização do esmalte foi reduzida à medida que se elevou a frequência de aplicações de NaF gel. Mas sua prescrição adequada se relaciona ao custo-benefício. O potencial do flúor tópico é capaz de inibir erosão endógena de pequeno grau, embora não tenha ação efetiva nas mais severas.

Um estudo analisou a superfície e a sub-superfície de blocos de esmalte bovino pré-tratados com flúor, após a erosão. A amostra foi constituída por 2 fragmentos por grupo e o pré-tratamento foi realizado TiF_4 (gel ou solução aquosa) a 4%, fluoramina (Elmex Fluid, Gaba) ou verniz

fluoretado (Flúor Protector,Vivadent), sendo que a amostra controle não sofreu pré-tratamento. A amostra foi erodida por 0,5 ou 15 min em ácido cítrico (pH=3,0) a 0,05 M sob agitação. As amostras pré-tratadas com fluoramina mostraram diminuir a formação de camada amorfa na superfície, a qual foi completamente removida, após o primeiro desafio erosivo. A aplicação do verniz fluoretado resultou na formação de uma camada superficial, na qual apareceriam leves poros após a erosão. Os resultados sugeriram que ambos, tanto o TiF_4 como o verniz fluoretado, podem exercer um papel na prevenção da erosão dentária. Os autores sugeriram que outras pesquisas sejam desenvolvidas quanto à natureza química e física da interação destes produtos com a dureza do tecido dentário e havendo necessidade de maiores esclarecimentos sobre esses mecanismos de ação¹⁷⁰.

BUCHALLA et al.²⁸ questionaram se o flúor seria capaz de reduzir a perda de esmalte dentário quando submetido à erosão e a abrasão/erosão sob severas condições erosivas. Além de determinarem a máxima proteção alcançada no esmalte submetido à erosão e a erosão-abrasão utilizando flúor de alta concentração com e sem adição de flúor no dentifrício. Os autores concluíram que o uso do flúor de alta concentração, o gel, foi capaz de proteger o esmalte da erosão e da erosão-abrasão significativamente, enquanto o dentifrício fluoretado sozinho promoveu uma pequena proteção.

GRENBY⁵⁹, propõe a manipulação do nível de ácido nos produtos industrializados, na tentativa de enfraquecimento do seu potencial erosivo,

como uma outra opção, mas ressalta que isto poderia acarretar mudança no sabor ou redução da validade do produto, pelas propriedades preservativas dos ácidos. E ainda acrescenta que outra tentativa seria a de incluir avisos mais incisivos nos rótulos dos produtos, promovendo a conscientização dos consumidores a respeito do potencial erosivo dos produtos.

Por outro lado, a modificação na formulação dos produtos seria uma opção para a prevenção da erosão dentária. Entretanto, não tem sido totalmente explorada, pois poderia modificar o sabor dos alimentos e o pH. A adição de flúor, para aumento da resistência do substrato dentário, como já foi abordado, exigira um controle e monitoramento mais cauteloso, pelo risco de sobreconsumo⁵⁹. LARSEN⁹⁶, em 2001, relatou que as bebidas ácidas seriam capazes de dissolver, consideravelmente, o flúor adicionado em suas formulações, tornando limitado o seu uso como método preventivo para erosão do esmalte.

A hipótese da adição do cálcio a bebidas foi investigada por WEST et al.¹⁷⁵. Avaliaram 4 bebidas, utilizando modelos *in vitro* e *in situ*, com a finalidade de comprovar se bebida modificada por adição de cálcio apresentava menor potencial erosivo. As bebidas avaliadas foram: suco de groselha com cálcio (480 ppm de Ca), suco de groselha (20 ppm de Ca), suco de laranja (167 ppm de Ca) e água mineral (29 ppm de Ca). Para avaliação *in situ*, 12 voluntários foram selecionados, os quais utilizaram aparelho intrabucal com espécimes de esmalte, durante o dia e consumiam,

4x/dia, 250 mL de cada bebida em diferentes etapas experimentais. Os espécimes foram removidos para análise perfilométrica após 3, 6, 9, 12 e 15 dias após experimento. O teste *in vitro* foi conduzido de forma semelhante. Os resultados mostraram, para o modelo *in situ*, que o desgaste do tecido aumentou com o tempo de exposição, exceto para água (constante). A groselha foi mais erosiva que o suco de laranja, com diferença estatística no 6º e 15º dias. Tanto o suco de groselha como o de laranja foram mais erosivos que a bebida modificada em todos os períodos. A bebida modificada diferiu da água apenas no 3º dia. No modelo *in vitro*, o desgaste foi maior que *in situ*, com exceção para água. Em relação às comparações entre bebidas, os resultados foram similares ao modelo *in situ*, com exceção para a bebida modificada que só não diferiu da água no 3º e 6º dia. A adição de cálcio às bebidas de baixo pH diminui o potencial erosivo das mesmas tanto *in vitro* como *in situ*.

HUGHES et al.⁷⁶ compararam a erosão produzida por um suco de groselha modificado com adição de cálcio (1.040 mg Ca /L) com o suco de groselha padrão (950 mg Ca /L), o suco de laranja (controle positivo, 120 mg Ca/L) e água (controle negativo, 9,9 mg Ca/L). Para isso, utilizaram um método *in situ* cruzado, com 4 fases e com a participação de 12 voluntários os quais utilizaram aparelho palatino com 4 espécimes de esmalte humano permanente, sendo 3 polidos (2 blocos foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura no 2º e 5º dia e não retornaram ao aparelho, 1 bloco

foi avaliado por perfilometria no 2º, 5º e 10º dia) e 1 não polido (microscopia). O aparelho foi utilizado durante 10 dias, das 9h às 17h, período em que os voluntários bebiam 250 mL das bebidas, 4 vezes ao dia, com 1 h de almoço. Durante o período experimental, os voluntários não podiam consumir nada, exceto água, chá e café. Após o 5º dia, no lugar dos 2 blocos removidos para a microscopia colocou-se 1 bloco novo o qual foi avaliado por perfilometria. Antes da análise perfilométrica, os blocos foram lavados em ultra-som por 30 segundos. Em relação ao desgaste, a diferença entre bebidas foi relevante após 5º e 10º dia ($p < 0,05$). Os 2 sucos de groselha mostraram menor erosão quando comparados ao controle positivo ($p < 0,05$). Apenas ao 10º dia, o suco modificado mostrou maior erosão em relação ao original ($p < 0,05$). Os 2 sucos de groselha não diferiram da água durante o período experimental. Do 5º dia ao 10º dia, o efeito erosivo do suco de laranja aumentou 3 vezes. Os resultados sugerem que o suco de groselha não causa erosão significativa. Estes achados foram contrários aos apresentados no estudo de WEST et al.¹⁷⁵.

ATTIN et al.¹⁵, em 2003, avaliaram o efeito da suplementação mineral do ácido cítrico para prevenir a erosão no esmalte. Utilizaram 156 incisivos bovinos, que foram distribuídos em 13 grupos ($n=12$). O grupo 1 usou somente o ácido cítrico, sendo utilizado como controle. Os grupos 2-10 cálcio, fosfato ou flúor foi adicionado ao ácido cítrico. Nos grupos 11-13 o ácido cítrico foi suplementado com a mistura de cálcio, fosfato e flúor. Para a

desmineralização os espécimes foram rinsados com a respectiva solução por 1 minuto, imediatamente seguiu-se a remineralização em saliva artificial (1 minuto). Os espécimes foram ciclados por esta alternância produzida 5 vezes e em seguida rinsados por 8 horas em saliva artificial. Os ciclos de des-remineralização foram repetidos por 3 vezes em cada espécime interrompidos por períodos de 8 horas. Antes e após os experimentos, os espécimes foram avaliados quanto a microdureza (Knoop) e perfilometria a laser. A perda de dureza e a dissolução do esmalte foram significativamente maiores para os grupos controles quando comparados aos demais grupos. Foi observada diminuição significativa na perda de dureza para todos os grupos que receberam a adição de cálcio, fosfato e flúor ao ácido cítrico. O aumento significativo na perda de dureza foi encontrado no grupo controle. A modificação do ácido cítrico com cálcio, fosfato e flúor, exerceram um potencial protetor significativo com relação à erosão dentária. Entretanto, quando baixas concentrações são usadas, a dissolução do esmalte pode não ser completamente prevenida.

Essas opções não parecem corresponder às necessidades e às expectativas dos consumidores, haja vista as alterações provocadas nos respectivos produtos.

Apesar de crescente preocupação em relação ao desgaste dentário, envolvendo erosão e erosão associada à abrasão, demonstrada na revisão da literatura apresentada, há a necessidade de se investigar novas

possibilidades que possam atuar no tratamento e na prevenção desta alteração dentária.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
BAURUR

3

Proposição

3 Proposição

Este estudo foi realizado em duas etapas.

A primeira etapa teve por objetivo avaliar *in vitro* o potencial erosivo de 5 refrigerantes, a fim de se determinar o de maior potencial erosivo e consumo, que seria utilizado na etapa seguinte.

A segunda etapa teve por objetivo avaliar *in situ* o efeito do sulfato ferroso na redução da ação erosiva e do efeito sinérgico entre erosão e abrasão, após o consumo do refrigerante.

As hipóteses nulas consideradas foram:

- O esmalte e a dentina humanos não apresentam diferenças entre perda de dureza, rugosidade e desgaste quando submetidos às condições de erosão associada ou não à abrasão, na presença ou ausência de bochecho com solução de sulfato ferroso.
- O bochecho com solução de sulfato ferroso não é capaz de diminuir a perda de dureza, a rugosidade e o desgaste, do esmalte e da dentina humanos, submetidos às condições de erosão associada ou não à abrasão.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
BAURUR

4

*Material e
Métodos*

4 *Material e Métodos*

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi inicialmente submetido à avaliação pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru-SP, processo número 29/2004, recebendo parecer favorável (Anexo 1).

4.2 SELEÇÃO DA BEBIDA

Foi realizada uma entrevista em bares, restaurantes, boates e academias de Bauru, num total de 30 estabelecimentos, para se obter informações acerca das bebidas mais consumidas por jovens. Após a definição das 5 bebidas mais consumidas (Coca-cola®; Coca-cola Light®; Sprite Diet®; Guaraná Antártica®; Pepsi Twist®) foi realizada *in vitro* a análise do efeito erosivo destas na superfície dentária.

4.3 AVALIAÇÃO *IN VITRO*

4.3.1 Delineamento Experimental

Esta fase *in vitro* foi realizada em um único dia, durante o qual os blocos de esmalte bovino (4 x 4 x 2,5 mm) foram expostos a 5 tipos

diferentes de bebidas em 4 ciclos de desmineralização-remineralização. Cada grupo foi composto por 20 blocos de esmalte. O efeito da erosão foi avaliado por meio da análise da microdureza superficial dos espécimes. Além disso, houve a avaliação do pH, concentração de fosfato e de flúor e a capacidade tampão destas bebidas.

4.3.2 Avaliação do pH, capacidade tampão e concentração de fosfato e flúor na bebida

As 5 bebidas foram submetidas à avaliação do pH logo após a abertura da lata do refrigerante, utilizando para tal o eletrodo (Corning Micro Combo 46157, Ind. Bras., São Paulo, SP) e o pH-metro (Micronal pH-metro B 371, Ind. Bras., São Paulo, SP), sendo o eletrodo imerso em 10 mL da bebida. A capacidade tampão foi avaliada em 3 mL de cada bebida, em triplicata. Ela foi determinada a partir do pH, após uma série de adições de 0,025 mL de NaOH 0,2 mol/L. Para avaliar a capacidade tampão, foi somada a quantidade necessária de NaOH para elevar o pH da bebida em 1 unidade, como pHs iniciais utilizou-se 4,0 e 7,0. Quanto maior a quantidade necessária de hidróxido de sódio, maior a capacidade tampão da bebida, o que sugere efeito erosivo mais intenso.

A concentração de fosfato encontrada em cada refrigerante foi analisada colorimetricamente pelo método de FISKE; SUBARROW⁴⁹,

utilizando-se um espectrofotômetro digital (Cary 50, Pharmacia Biotechnology, EUA), empregando-se os seguintes reagentes:

1. Reativo Redutor

- Ácido alfa amino naftol sulfônico (AANS): 0,2g
- Sulfeto de sódio: 1,2g
- Dissulfito de sódio: 1,2g

A mistura acima foi triturada em gral e armazenada em frasco escuro. No momento da análise, cada 0,025g da mistura foi dissolvida em 1,0 mL de água deionizada.

2. Ácido Molibdico

- Molibdato de amônio: 6,25g
- Ácido sulfúrico concentrado: 27,0 mL

3. Padrão contendo 3 mg% P

A reação foi realizada de acordo com a Figura 1.

	Blank	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Amostra
Água deionizada	2,300 mL	2,275 mL	2,250 mL	2,200 mL	2,100 mL	1,900 mL	1,500 mL	2,200 mL
Padrão P 3 mg%	-	0,025 mL	0,050 mL	0,100 mL	0,200 mL	0,400 mL	0,800 mL	-
Amostra	-	-	-	-	-	-	-	0,1 mL
Ácido molibídico	0,5 mL em todos, agitar e esperar 10 minutos							
Redutor	0,2 mL em todos, agitar imediatamente, esperar 20 min e ler a 660nm							
µg P		0,75	1,5	3,0	6,0	12,0	24	

FIGURA 1- Dosagem de fósforo de acordo com o método de FISKE; SUBBAROW⁴⁹

Inicialmente foi colocada água deionizada nos tubos de ensaio de acordo com os volumes descritos na Figura 1. A seguir foram colocados, em triplicatas, os padrões de P ou as amostras. Então foi colocado 0,5 mL de ácido molibídico em todos os tubos, feita agitação e esperou-se 10 minutos. A coloração da reação foi desenvolvida pela adição de 0,2 mL de reativo redutor. Após 20 minutos da colocação do reativo redutor realizou-se a leitura em espectrofotômetro (Cary 50) a 660 nm de absorbância.

A concentração de flúor foi analisada com o eletrodo flúor-sensível, após difusão facilitada por HMDS (hexametildisiloxano), realizada pelo método de TAVES¹⁶⁴. Para tanto, as amostras das bebidas (1 mL) juntamente com água deionizada (2 mL) totalizando um volume de 3 mL foram colocadas em placa de Petri plástica (Falcon. N ° 1007). No centro

desta placa foi fixada com vaselina uma tampa de polietileno (Falcon, n° 2030), na qual colocou-se 0,1 mL de NaOH 1,65 M. A placa foi então fechada, com sua tampa vedada com vaselina e por um orifício feito previamente na tampa acrescentou-se 1,0 mL de hexametildisiloxano (HMDS) em HCL 6 M, sendo o orifício imediatamente vedado com vaselina. As placas foram colocadas numa mesa agitadora orbital plana (Nova Técnica, modelo NT 145) em velocidade, 3-4 durante 14 horas. No dia seguinte, as tampas de polietileno foram removidas e colocadas em estufa a 60°C por um período de 2 a 3 horas. As tampas de polietileno foram então encaixadas em tubos de ensaio de polietileno (Falcon, n° 2017) contendo 0,4 mL de ácido acético 0,66 M, que foram invertidos e agitados vagarosamente para dissolver os cristais de fluoreto de sódio, estando a solução pronta para a análise de flúor, que foi realizada através do eletrodo F sensível combinado (Orion 9609), acoplado ao analisador de íons Procyon SA-720.

Um conjunto de padrões (variando entre 0,025 – 3,200 ppm de flúor) foi preparado, usando diluição seriada de um estoque de solução de 100 ppm de NaF (Orion#940907) e difundido em triplicata da mesma maneira das amostras dos refrigerantes. As milivoltagens foram convertidas para µg F/g usando uma curva padrão com coeficiente de correlação de $r \geq 0,999$. Todas as amostras foram analisadas em duplicata. A cada 1 hora foi realizado um teste para checagem da calibração.

4.3.3 Corpos de Prova

Para o estudo foram utilizados 100 corpos de prova de esmalte bovino, igualmente divididos em 5 grupos:

- **GRUPO I:** 20 fragmentos de esmalte bovino que sofreram erosão pela bebida 1 (Coca-cola®).
- **GRUPO II:** 20 fragmentos de esmalte bovino que sofreram erosão pela bebida 2 (Coca-cola Light®).
- **GRUPO III:** 20 fragmentos de esmalte bovino que sofreram erosão pela bebida 3 (Sprite Diet®).
- **GRUPO IV:** 20 fragmentos de esmalte bovino que sofreram erosão pela bebida 4 (Guaraná Antártica®).
- **GRUPO V:** 20 fragmentos de esmalte bovino que sofreram erosão pela bebida 5 (Pepsi Twist®).

4.3.4 Obtenção dos dentes bovinos

Para a realização deste estudo foram utilizados incisivos inferiores bovinos. Após extração (Frigorífico Vangélio Mondelli Ltda., Bauru-SP) permaneceram armazenados em recipientes de vidro contendo solução tamponada de formol a 2%, em pH 7,0 (Departamento de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo), sob temperatura ambiente por 7 dias. Os dentes passaram por uma seleção

prévia, buscando-se selecionar os melhores dentes, eliminando aqueles com trincas, rachaduras, manchas hipoplásicas ou grande desgaste incisal.

4.3.5 Obtenção dos espécimes de esmalte bovino

Após limpar os dentes removendo todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície dentária com o auxílio de uma cureta periodontal (Duflex 55G/SS White Artigos dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil), estes foram preparados para a secção.

Primeiramente, foram removidas as raízes com o auxílio de um torno de polimento odontológico adaptado para corte (Fábrica Nacional de Motores Monofásicos Nevoni/ Série 16223, Tipo: TG1/3, São Paulo, SP, Brasil) e um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Ind. e Com. Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil), sendo feita uma secção na porção cervical dos dentes. Para este primeiro corte não houve necessidade de fixação prévia do incisivo bovino, bastando apenas segurá-lo firmemente pela porção coronal e pela raiz, sendo posteriormente levado manualmente de encontro ao disco adaptado na máquina de corte.

Em seguida, as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corporation, U.S.A.) no canto inferior direito de uma pequena placa de acrílico cristal (40mm X 40mm X 5mm) para facilitar a adaptação posterior na máquina de corte. A placa de acrílico foi parafusada em um aparelho de corte de precisão ISOMET Low Speed Saw (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL,

USA). Com o auxílio de dois discos diamantados dupla face - XL 12205, "High concentration", 102 mm X 0,3 mm X 12,7 mm (Extec Corp., Enfield, CT, USA/ Ref: 12205) e um espaçador de aço inoxidável (7cm de diâmetro, 4mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos com velocidade de 300rpm, refrigerado com água deionizada, foram obtidos os blocos de esmalte de 4 mm X 4 mm da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal. Novamente os espécimes foram selecionados e aqueles que apresentaram rachaduras ou manchas foram eliminados, sendo selecionados ao final 100 corpos de prova.

4.3.6 Planificação dos espécimes de esmalte bovino

Os blocos foram fixados com cera pegajosa Kota (Kota Ind. e Com. Ltda., São Paulo, SP, Brasil) com o auxílio de uma cureta (Duflex, 55 G/SS, White, Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) e uma lamparina (JON, São Paulo, Brasil) no centro de um disco de acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), com a face de esmalte voltada para o disco, com o intuito de primeiramente realizar a planificação da dentina. O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, SP, Brasil) com sistema de polimento múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico onde foram fixados os espécimes.

Para a planificação foi utilizada uma lixa de silicone carbide de granulação 320 (Carbimet Paper Dics, 30-5108-320, Buehler), com refrigeração por água deionizada, até que os blocos ficassem com espessura de aproximadamente 4 mm. Para tanto, a politriz foi acionada em baixa velocidade, com 2 pesos padrão de 86 g, durante 30 segundos a 3 minutos, até se alcançar a espessura desejada.

Em seguida, os blocos foram removidos do disco de acrílico e limpos com xilol (MERCK, Darmstadt- Germany) para que todo o resíduo de cera aderido a eles fosse removido. Posteriormente, foram novamente fixados com cera pegajosa no centro da placa de acrílico com a face de dentina voltada contra a placa, para que fosse feito o polimento do esmalte objetivando a obtenção de uma superfície absolutamente plana e paralela à base, indispensável para a realização dos testes de microdureza.

Novamente o conjunto foi adaptado na politriz e inicialmente o esmalte foi desgastado com uma lixa de silicone carbide de granulação 600 (Extec Corp.), com refrigeração a água deionizada, durante 1 minuto, com 2 pesos, em velocidade baixa. Em seguida, foi feito o polimento do esmalte com lixa de silicone carbide de granulação 1200-4000 (Extec Corp.), com refrigeração a água deionizada, durante 2 minutos e 30 segundos, com 2 pesos, em velocidade alta. Para finalizar o polimento, foi utilizado um feltro (Extec Corp.) umedecido com uma suspensão de diamante de 1 μ m (Buehler), durante 3 minutos, com 2 pesos, em velocidade alta. Este

tratamento teve por objetivo polir e remover ranhuras do bloco de esmalte, para permitir a aferição da dureza no local.

Para impedir que os abrasivos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, o conjunto dente/disco foi levado a um aparelho de ultra-som T7 Thornton (Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil), com frequência de 40 KHz, durante 2 minutos, em 200mL de água deionizada. Ao final do polimento os blocos ficaram imersos por 10 minutos em água deionizada corrente.

4.3.7 Avaliação da Microdureza de Superfície Inicial e Final

Foi realizada por meio do Microdurômetro Shimadzu (HVM 2000/ Shimadzu Corporation, Japan. Faculdade de Odontologia de Bauru-SP) acoplado a um *software* específico para análise de imagens (INDENTEC, Cams-Win-New Age Industries/ USA). Utilizou-se um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, aplicado com carga de 50 g por 10 segundos. Foram realizadas 5 endentações, sendo uma central, uma acima e outra abaixo, uma à esquerda e outra à direita, com distâncias aleatórias entre elas, englobando diferentes áreas da superfície com mais de 1000 μm da lateral do bloco. Para medir as endentações realizadas, duas marcas pontilhadas que apareciam na tela do computador se sobrepunham aos vértices agudos do losango correspondente à endentação, determinando o comprimento da

maior diagonal e, conseqüentemente, os resultados da dureza de KNOOP por meio do cálculo automático feito pelo software através da seguinte equação:

KHN = valor de dureza Knoop

C (constante)= 14.230

$$KHN = \frac{C \times \text{carga}}{d^2}$$

Carga = 50 g

d= comprimento da maior diagonal da endentação.

Foram consideradas as seguintes ocasiões:

- ✓ Antes da imersão dos blocos nas bebidas, para avaliar a dureza inicial.
- ✓ Logo após o experimento, para quantificar a alteração na dureza.

A média do comprimento da diagonal maior das cinco endentações foi utilizada para excluir fragmentos com microdureza fora do padrão. Foram desprezados os fragmentos com um valor médio de microdureza 5% acima ou abaixo da média de todos os fragmentos e, aqueles com desvio-padrão do comprimento das endentações acima de 10% do valor de sua própria média. A média da microdureza de todos os espécimes bovinos foi de 345 KHN e os espécimes selecionados apresentaram dureza mínima de 313 KHN e máxima de 380 KHN. Alguns espécimes foram descartados por

apresentarem trincas ou por não estarem totalmente paralelos após o polimento. Ao final foram selecionados 100 fragmentos, sendo descartados outros 30.

Para avaliar a porcentagem de perda de microdureza de superfície (%PDS) após a imersão dos blocos nas bebidas, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\%PDS = \frac{\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final} \times 100}{\text{microdureza inicial}}$$

4.3.8 Etapa experimental

Antes do experimento, os blocos foram armazenados em recipiente plástico, imersos em saliva artificial (Ca 1,5 mM, PO₄ 0,9 mM, KCL 150 mM e Tampão Tris 20 mM, pH 7,0) por 24 horas a 37°C, para formação da película adquirida. O volume de saliva utilizado foi suficiente para cobrir os blocos. Após esta ocasião, os diferentes grupos foram submetidos a 4 ciclos de remineralização, em um único dia. Os blocos foram colocados isoladamente em um béquer tampado, contendo os respectivos refrigerantes. Estes béqueres foram dispostos numa mesa agitadora. Os refrigerantes utilizados estavam a 8°C (Figura 2).

FIGURA 2- Fluxograma da etapa *in vitro*

Cada ciclo foi composto por:

- Desmineralização pela bebida (15 mL) por 10 minutos, sob agitação suave.
- Remineralização em 30 mL de saliva (mesma composição anteriormente descrita) por 1 hora a 37°C.
- Após o último ciclo, os espécimes foram lavados em água deionizada.

4.3.9 Análise Estatística

Os dados foram avaliados em relação à normalidade e homogeneidade. Para comparar os diferentes grupos foi utilizada Análise de Variância (ANOVA), com $p < 0,05$. Quando a resposta foi significativa, utilizou-se o teste de Tukey. O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%. O coeficiente de Pearson foi utilizado para relacionar a %PDS às outras variáveis analisadas nas bebidas.

4.4 AVALIAÇÃO *IN SITU*

4.4.1 Delineamento Experimental

A seleção da bebida foi baseada no alto consumo (avaliado através de questionário, conforme descrito anteriormente), bem como no seu potencial erosivo (estabelecido na etapa *in vitro*). Na pesquisa realizada a Coca-cola® foi a de maior consumo, quando comparada a outras bebidas

não alcoólicas, tendo representado 49% do consumo. Os resultados da etapa *in vitro* demonstraram que não houve diferença significativa entre o Sprite Diet® e a Coca-cola® em relação ao potencial erosivo, sendo então, a última, selecionada para a etapa *in situ*.

Uma vez definida a bebida iniciou-se a etapa experimental *in situ*, na qual foram utilizados blocos de esmalte e de dentina de dentes humanos permanentes selecionados a partir da microdureza inicial.

Esta etapa foi do tipo cruzada e cega, envolvendo um desenho aleatorizado em blocos por voluntário, sendo realizada em dois períodos experimentais de 5 dias, durante os quais 10 voluntários foram divididos em dois grupos, os quais utilizaram dispositivos intrabucais palatinos contendo 12 espécimes, sendo 6 de esmalte e 6 de dentina. Foram então estudadas 2 condições de bochechos – bochecho com a solução de sulfato ferroso a 10 mmol/L e sem bochecho; 2 substratos dentários – esmalte e dentina; e 3 condições de erosão – erosão somente, erosão associada à abrasão (1 min) e erosão associada à abrasão mediata (30 min).

Deste modo, foram estabelecidos 2 grupos experimentais (com bochecho- CB e sem bochecho-SB), dois subgrupos (esmalte e dentina), e 3 condições experimentais (erosão somente, erosão associada à abrasão (1 Min) e erosão associada à abrasão mediata (30 Min)), como podem ser observados na Figura 3.

Em horários pré-estabelecidos (10h, 13h, 16h e 19h), os voluntários imergiram o aparelho em 150 mL da bebida contida em um copo calibrado com o volume exato, durante 5 minutos¹⁴⁶. Antes de colocar o aparelho na boca, os voluntários tomaram um gole da bebida (10 mL) para simular o que ocorreria na boca, caso ingerissem toda a bebida. Em seguida, os voluntários do grupo CB realizaram um bochecho utilizando 10 mL de uma solução sulfato ferroso 10mmol/L, durante 1 minuto, em ambos os períodos experimentais. Os voluntários do grupo SB ficaram com o aparelho na boca durante 1 minuto, correspondendo ao período de realização do bochecho. Imediatamente depois do bochecho (grupo CB) ou 1 minuto após o aparelho estar na boca (grupo SB), os voluntários fizeram a escovação em sentido horizontal do aparelho na fileira marcada como 1 Min, nos dois espécimes de esmalte e de dentina, localizados na segunda fileira.

FIGURA 3- Esquema dos períodos da etapa *in situ*

Após 30 minutos, fizeram a escovação em sentido horizontal do aparelho, nos dois espécimes de esmalte e de dentina localizados na 3ª fileira, marcada como 30 Min. A primeira fileira só foi submetida à ação erosiva da bebida. Estes procedimentos foram repetidos 4 vezes ao dia. Cada período experimental foi realizado durante 5 dias^{76,175}, com um intervalo de 7 dias de descanso ("wash out") entre etapas⁹². Então, deu-se seqüência ao delineamento cruzado do estudo, sendo que os voluntários que realizaram o bochecho no 1º período, não realizaram nenhum bochecho no 2º, e vice-versa.

Assim, um total de 120 espécimes de fragmentos de esmalte e 120 de dentina de dentes humanos, após um ordenamento planejado conforme a dureza, foram aleatoriamente divididos entre 10 voluntários e entre as condições experimentais do estudo. Desta forma para cada grupo foram utilizados 2 fragmentos de esmalte e 2 de dentina humanos por voluntário, totalizando 20 fragmentos de cada tipo de substrato.

A análise quantitativa do desgaste foi realizada por meio de testes de microdureza, rugosidade e perfilometria. Desta forma as variáveis de resposta foram porcentagem de perda de dureza superficial, alteração da rugosidade superficial e perfil de desgaste. A referência de esmalte e de dentina hígidos, cuja medida foi necessária para realização desta análise, apresentava-se no próprio espécime, pois todos os blocos dentários

apresentavam metade de suas superfícies protegidas por esmalte cosmético (Colorama, São Paulo, SP) de unha.

4.4.2 Amostra

A amostra, previamente selecionada, foi constituída por 10 indivíduos que foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (SB e CB). Esses utilizaram um dispositivo palatino durante 2 períodos experimentais cruzados:

- **Voluntários ímpares (1, 3, 5, 7, 9)**- 1º período SB e 2º CB.
- **Voluntários pares (2, 4, 6, 8, 10)**- 1º período CB e 2º SB.

O dispositivo palatino foi dividido em 3 fileiras horizontais, sendo que a primeira fileira os blocos (2=esmalte e 2=dentina) só foram submetidos à erosão, segunda erosão e abrasão após 1 minuto e a terceira erosão e abrasão após 30 minutos (Figura 4).

FIGURA 4- Aparelho contendo doze blocos de dentes humanos

Os voluntários receberam as devidas informações e explicações sobre as tarefas a serem cumpridas durante os 2 períodos experimentais e após os esclarecimentos necessários, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para que a fase experimental tivesse início.

FIGURA 5- Fluxograma da etapa *in situ*, sem o uso do bochecho

FIGURA 6- Fluxograma da etapa *in situ*, com o uso do bochecho

4.4.3 Obtenção dos dentes humanos e preparo dos blocos

4.4.3.1 Ajuste do esmalte

Foram utilizados 160 dentes humanos extraídos (3º molares), livres de cárie, os quais foram esterilizados com solução tamponada de formol 2% em pH 7,0 sob temperatura ambiente por no mínimo 30 dias (Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo), e submetidos à análise visual para a averiguação de possíveis trincas e rachaduras, situação na qual foram excluídos da amostra³⁴.

Na seqüência, as coroas foram separadas das raízes, utilizando um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Ind. E Com. Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil), acoplado a um torno de polimento odontológico adaptado para o corte (Fábrica Nacional de Motores Monofásicos Nevoni/ Série 16223, Tipo: TG1/3, São Paulo, SP, Brasil)^{50,163}.

Posteriormente, as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corporation, USA) em uma placa de acrílico 40 mm x 40 mm x 5 mm; em seguida, seccionados no sentido méso-distal, com dois discos diamantados dupla face (Diaflex-F- Wilcos do Brasil, Petrópolis, RJ, Brasil) com um espaçador de 4 mm entre eles, posicionando-se um disco ligeiramente acima do limite cervical e outro na coroa, desta forma obteve-se uma fatia de dente da porção coronária numa secção transversal.

Devido às irregularidades e angulações do esmalte as áreas planas sem sulcos, que possibilitam a obtenção de fragmentos, foram demarcadas com lápis grafite nº5 (A.W. Faber-Castell S. A.), para facilitar a análise de como seriam feitos os cortes, de modo a obter o maior número de fragmentos de esmalte dentre as faces da fatia do dente.

Geralmente os dentes inferiores originam espécimes de esmalte das faces vestibular, lingual, mesial e distal da coroa, podendo totalizar 4 fragmentos por dente. Nestes casos, as fatias da porção coronária foram fixadas com a dentina voltada para a placa de acrílico cristal e executou-se um corte duplo de mesial para distal com dois discos diamantados dupla face com espaçador de 4 mm entre eles. Esse corte, realizado de uma só vez sobre duas marcações foi possível, pois as regiões planas das faces mesial e distal dos dentes inferiores eram sempre paralelas. Como resultado obtiveram-se 2 fragmentos 4 x 4 mm unidos entre si e, com apenas um disco diamantado dupla face acoplado à máquina de corte estes foram separados. Portanto, da fatia original, restaram duas porções correspondentes às faces vestibular e lingual da coroa possibilitando a obtenção de mais dois espécimes. Então estas porções foram fixadas uma ao lado da outra com as áreas de esmalte demarcadas posicionadas para cima e paralelas entre si, em seguida, com dois discos diamantados dupla face com espaçador de 4 mm, realizou-se um corte sobre as demarcações, obtendo-se mais 2 espécimes de 4 x 4 mm, quando possível.

Os dentes superiores, com frequência originaram 3 espécimes de esmalte, e como para os inferiores, após as demarcações, as fatias da porção coronária foram fixadas com a dentina voltada para a placa de acrílico. No entanto, o corte foi realizado com apenas um disco diamantado para separação da área de uma das demarcações, pois o corte duplo (2 discos simultaneamente) atingiria o meio de outra região demarcada impossibilitando a obtenção de maior quantidade de espécimes. Posteriormente, a porção restante foi fixada da mesma forma e também com um disco separaram-se as outras demarcações. Ao final, as três porções menores obtidas foram fixadas lado a lado com as demarcações paralelas entre si e por meio de um corte duplo com dois discos diamatandos dupla face com espaçador de 4 mm obteve-se 3 espécimes de 4 x 4 mm.

Nova seleção de espécimes foi feita e aqueles que continham rachaduras ou manchas foram eliminados, permanecendo ao final 162 blocos de esmalte e 159 de dentina, humanos.

Planificação e polimento dos espécimes de esmalte

Os blocos de esmalte humano obtidos possuíam formato e medidas semelhantes, de forma que, a fase de planificação e polimento foi semelhante.

Por fim, estes blocos foram submetidos a uma planificação. E para tal, foram fixados com cera pegajosa (Kota Ind e Com. Ltda, São Paulo, SP,

Brasil) em discos de acrílico de 30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura, com a superfície do esmalte voltada para baixo. A dentina foi planificada na Politriz Metalográfica com um sistema múltiplo (APL 4, Arotec, Cotia, SP) a partir do uso de uma lixa de silicone de granulação 320 (Extec. Corp.), durante período de 15 segundos em baixa velocidade^{50,163}.

Em seguida, os blocos foram retirados da placa e limpos com xilol (Farmácia Específica manipulação de fórmulas, Bauru - SP), para remover resíduos de cera. Os blocos novamente foram fixados, mas com a superfície do esmalte exposta. Utilizaram-se lixas de silicone de granulação 600 e 1200 (Extec. Corp.) em alta velocidade até a superfície apresentar aspecto vítreo. Entre as trocas de lixas, os discos contendo os blocos foram lavados em ultra-som T7 Thornton, durante 5 minutos, em 200 mL de água deionizada, a fim de impedir interferência dos abrasivos na qualidade do polimento a ser obtido.

Para o polimento final, utilizou-se um disco de feltro (Extec. Corp.) umedecido em solução de diamante de 1 μm (Buehler), durante 1 minuto. Após o último polimento, os blocos retornaram ao ultra-som, durante 10 minutos. Em seguida, uma parte dos blocos foi protegida por esmalte cosmético de unha (controle) com a finalidade de possibilitar a análise perfilométrica. Os blocos foram armazenados em suas placas de acrílico na geladeira e cobertos por gaze umedecida em água deionizada até a sua utilização^{128,163}.

Proteção de metade dos espécimes

Para a realização dos testes de perfilometria, foi necessário proteger uma área dos fragmentos com esmalte cosmético (Colorama, São Paulo, SP). Uma fita adesiva (Scott, 3M do Brasil Ltda, Sumaré, SP) foi posicionada na diagonal da superfície do espécime, promovendo a proteção de uma parte e expondo a outra área a ser pintada. Em algumas ocasiões a planificação e o polimento não abrangeram toda a superfície. Foi necessário nestes casos adaptar a proteção, colocando a fita adesiva em uma reta paralela a um dos lados da superfície, englobando metade da área polida.

4.4.3.2 Ajuste da dentina

Após a obtenção dos espécimes coronários, foi utilizada a porção radicular do elemento dentário, para obtenção do fragmento de dentina. Os ajustes necessários foram realizados para tornar a dentina paralela à superfície da placa de acrílico, onde foram feitas as avaliações no microdurômetro. Na Politriz giratória de granulação 320 em baixa rotação sob refrigeração, utilizou-se 1 peso padrão (86 g) e o tempo de 15 segundos, para planificar a superfície dentária oposta à dentina que seria avaliada. A espessura dos blocos foi analisada por meio de uma escala milimétrica, para ficar aproximadamente com 2 mm. Os blocos foram fixados com godiva termoativada em uma placa de acrílico pré-fabricada (40

mm x 40 mm x 5 mm), com a superfície da dentina voltada para o acrílico, para planificação. Após a planificação e o ajuste da superfície dentária, o bloco foi removido da placa de acrílico e a godiva foi totalmente removida, e os blocos foram limpos com xilol (Merck, Darmstadt, Germany). Para se obter o aspecto vítreo da superfície dentária a ser testada, foram utilizadas lixas de granulação 600 e 1200 (Extec. Corp.), seguindo o mesmo protocolo da planificação do esmalte até o polimento final. Em seguida uma parte dos blocos de dentina foi protegida por esmalte cosmético para unha (controle), com a finalidade de possibilitar a análise perfilométrica. Seguiu-se o mesmo protocolo de armazenamento empregado para os blocos de esmalte^{128,163}.

4.4.4 Seleção dos voluntários

Foram selecionados dez adultos jovens, na faixa etária de 18 a 30 anos (média 27 anos), sem distinção em relação ao gênero. Os critérios adotados para exclusão da amostra foram: fumar; apresentar lesões de cárie ativa no estágio de cavitação; apresentar desgaste dentário acentuado; ter recebido métodos preventivos de alta concentração de flúor pelo menos 2 semanas antes do estudo; ter utilizado nos últimos 2 meses ou utilizar medicamentos que afetassem o fluxo salivar (antidepressivos, narcóticos, diuréticos, anti-histamínicos); ter sofrido irradiação; ter atividades aquáticas (cloro presente nas piscinas levam o indivíduo em contato com ambientes de

baixo pH) ou trabalhar em ambientes poluídos por compostos de baixo pH (indústrias); apresentar doenças sistêmicas tais como as auto-imunes, xerostomia, menopausa, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastresofágicos e distúrbios de regurgitação e vômito^{92,162}; apresentar fluxo salivar estimulado menor que 1 mL/min e não estimulado menor que 0,1 mL/min.

Uma vez realizada a anamnese, coletou-se saliva 2 horas após a última refeição, para a avaliação do fluxo salivar não estimulado e estimulado. O exame clínico foi realizado com espátula de madeira sob luz natural, para detecção de cárie ativa em estágio de cavitação.

4.4.4.1 Avaliação do fluxo salivar

O paciente foi acomodado em uma cadeira tipo universitária, com assento, espaldar e apoio para mão e, solicitou-se que cuspsse por 5 minutos em recipientes de plástico calibrados. Estes foram pesados, em uma balança eletrônica de precisão (AND, GR-202, A&D Company Limited C. E., Japan), antes e depois da coleta de saliva, considerando a densidade da saliva 1 para determinação do volume e velocidade de saliva liberada (mL/min). Foi considerado como fluxo normal quando o paciente excedeu 0,1 mL/min (média de 0,25 a 0,35 mL/min)¹⁶².

O mesmo procedimento foi realizado logo após para a saliva estimulada, exceção feita para o fato que os pacientes mastigaram um pedaço de tubo cirúrgico de látex autoclavado de 1 cm, preso por um fio de linha. Então os mesmos cuspiram por 5 minutos em recipientes de plástico calibrados, os quais foram pesados antes e depois da coleta de saliva, considerando a densidade da saliva 1 para determinação do volume e velocidade de saliva liberada (mL/min). Foi considerado como fluxo normal uma variação de 1 a 3 mL/min^{136,162}.

4.4.5 Preparo dos dispositivos intrabucais e instruções aos voluntários

Para a análise *in situ*, os voluntários tiveram seus arcos superiores moldados com alginato (Ezact Kromm, Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) para a confecção do modelo de gesso pedra (Duranit, Chaves S.A., mineração e Ind., Fortaleza, CE, Brasil) e do aparelho intrabucal palatino em resina acrílica (Jet, Artigos Odontológicos Clássicos, São Paulo, SP, Brasil), no qual foram realizados 6 nichos (10 mm x 6 mm x 3 mm), dispostos em 3 fileiras de cada lado (esquerdo e direito) para a fixação de 2 espécimes, 6 blocos de esmalte e 6 blocos de dentina, com cera pegajosa Kota, os quais ficaram na mesma altura da superfície externa da resina.

A distribuição dos blocos foi realizada a partir de sorteios aleatórios. Para tal, os blocos foram separados de acordo com a dureza, para que os

aparelhos tivessem tanto blocos com microdureza mais alta como mais baixa¹⁶³, utilizando-se o programa Microsoft Excel. Os 120 espécimes de esmalte e os 120 de dentina foram separados e ordenados no sentido crescente de microdureza e utilizando a função “ALEATÓRIO” da categoria matemática, 12 sorteios aleatórios foram realizados para dividir os espécimes entre os 10 voluntários. Em seguida, os voluntários foram ordenados no sentido crescente de microdureza e 20 sorteios aleatórios dos 6 grupos experimentais foram realizados¹⁴⁶. No total, para cada voluntário foram destinados 6 espécimes de cada substrato (esmalte e dentina), para cada período experimental.

A localização das fileiras horizontais correspondentes às condições experimentais foi planejada de forma que os espécimes estivessem igualmente distribuídos nas 3 fileiras do aparelho nos diferentes voluntários, alterando a posição da fileira correspondente à condição testada.

A distribuição dos espécimes de esmalte e de dentina no dispositivo foi realizada de forma que se de um lado o de esmalte estivesse a mesial, do outro lado estaria a distal e vice-versa.

Na fixação dos blocos teve-se o cuidado de adaptar de forma adequada, para evitar a presença de fendas, pois isto poderia facilitar o acúmulo de biofilme bacteriano, o que seria indesejável.

4.4.6 Procedimentos durante o experimento

Cada voluntário recebeu uma lista de instruções, uma pisseta com água deionizada, um frasco com clorexidina (FGM Produtos Odontológicos, Dentscare Ltda, Joinville, SC, Brasil), e o dentifrício fluoretado com 1078 ppm F (Crest®), escova dentária Close-up infantil macia (PHB – Produtos de higiene do Brasil LTDA, Curitiba, PR, Brasil), um estojo plástico (Dental Morelli Ltda, Sorocaba, SP, Brasil) para guardar o aparelho, porções de gaze, bebida necessária para a 1ª etapa, bochecho da solução de FeSO_4 (250 mL) e copos de plástico padronizados para a bebida (150 mL) e para o bochecho (10 mL). Os materiais foram repostos conforme a necessidade. Em relação ao bochecho com solução de FeSO_4 teve-se o cuidado de acondicioná-lo em vidro âmbar para não sofrer alterações e diariamente os voluntários foram orientados para observar se havia alguma modificação na coloração e/ou precipitação.

O aparelho foi instalado um dia antes do início da fase experimental, à noite, após a última higiene e antes do paciente dormir, para a formação da película adquirida.

Período	Procedimento experimental
Dia 0	Aparelho na boca sem nenhum tratamento
Dia 1	<p>Início do tratamento:</p> <p>1º- 4 tratamento erosivos (10h, 13h, 16h, 19h)- 5 min na bebida</p> <ul style="list-style-type: none">• pelo menos 1h após a última refeição• com intervalo de pelo menos 2h entre um tratamento e outro <p>2º- 1 gole do refrigerante</p> <p>3º- Aparelho volta para boca por 1 minuto</p> <ul style="list-style-type: none">• 1º Período – SB (sem bochecho) e CB (com bochecho)• 2º Período – CB (com bochecho) e SB (sem bochecho) <p>4º- Para todos os grupos nos 2 períodos: escovação da 2ª fila após 1 Min (na boca ou do bochecho), lava, volta para boca por 30 Min, escovação da 3ª fila após 30 Min</p>

FIGURA 7 - Procedimentos experimentais durante a etapa *in situ*

Durante o uso, os voluntários só removeram o aparelho para as principais refeições (café da manhã, almoço e jantar), ocasião em que o dispositivo ficou envolvido em gaze embebida por água deionizada dentro da caixa plástica fornecida. Em seguida realizaram a higiene bucal com dentifrício habitual. Os voluntários foram orientados também a não ingerirem bebidas, exceto água⁷⁷, durante o experimento, a não ser em horários das refeições quando não estavam utilizando o dispositivo.

Para a imersão do aparelho na bebida, os voluntários seguiram, sempre que possível, os horários pré-estabelecidos. Caso não conseguissem segui-los estritamente, foram orientados que o tratamento dos espécimes e o consumo da bebida só poderiam ser efetuados 1 hora após as refeições, para a formação da película caso esta tivesse sido removida¹⁶² e que após a ingestão da bebida, o aparelho deveria permanecer na boca pelo menos por 2 horas, para que a saliva pudesse agir no processo¹³.

Uma vez por dia, antes de dormir, o aparelho foi imerso em digluconato de clorexidina a 0,2%, pH 6,8, por 2 minutos, para evitar acúmulo de biofilme dentário⁷⁴.

Durante a etapa experimental os voluntários foram orientados em relação à escovação das 2ª e 3ª fileiras de acordo com o tempo a ser aguardado. A escovação foi feita com uma escova de cabeça pequena e cerdas extramacias, utilizando uma quantidade mínima de dentifrício fluoretado (Crest® com abrasivo à base de sílica) em toda extensão das

cerdas, correspondente a uma “sujeira”. Em seguida, escovaram os blocos de esmalte previamente marcados, durante 10 segundos, realizando 10 movimentos de vaivém sem aplicação de força. Em seguida o aparelho era lavado em água corrente por 15 segundos e retornava à boca, onde permanecia por 30 minutos. Ao final deste tempo, o aparelho era retirado da boca e iniciava-se a escovação da fileira correspondente à condição 30 Min.

Antes do início do experimento, os voluntários haviam sido treinados quanto à escovação sem pressão e quanto à quantidade de dentífrico a ser utilizada na escova.

A diferença de procedimentos executados nos dois períodos referiu-se ao uso ou não do bochecho com solução de FeSO_4 , para minimizar a erosão e reduzir o efeito sinérgico entre erosão e abrasão. Na véspera do experimento os voluntários utilizaram o aparelho, para formação de película adquirida. Durante 5 dias realizaram 4 imersões no refrigerante, por 5 minutos, e tomaram um gole do refrigerante. Colocaram o aparelho na boca e realizaram ou não o bochecho por 1 minuto. Após 1 minuto escovaram a 2ª fila, lavaram o aparelho, e recolocaram na boca. Aguardaram 30 minutos e escovaram a 3ª fila.

Após a finalização de cada etapa e antes da análise dos fragmentos de E e D, o aparelho foi desinfetado em digluconato de clorexidina a 0,2%. O esmalte cosmético para unha responsável pela proteção da metade da área dos espécimes foi retirado⁷⁴ com o auxílio da espátula *Lê cron* (Duflex, White

Artigos dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) levantando delicadamente a película do esmalte pelos vértices, para não danificar a região experimental.

4.4.7 Avaliação da microdureza de superfície, rugosidade e perfilometria

4.4.7.1 Determinação da microdureza superficial

A avaliação da microdureza superficial inicial foi realizada para seleção dos espécimes que seriam utilizados no experimento. Foi realizada por meio do Microdurômetro Shimadzu (HMV 2000) acoplado em um *software* (INDENTEC, Cams). Utilizou-se um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, aplicado com carga de 50 g por 10 segundos para esmalte e carga de 25 g por 5 segundos para dentina. Foram realizadas 5 endentações, sendo uma central, uma acima e outra abaixo, uma à esquerda e outra à direita, com distâncias aleatórias entre elas, englobando diferentes áreas da superfície com mais de 1000 µm da lateral do bloco. Para medir as endentações realizadas, duas marcas pontilhadas que apareciam na tela do computador se sobrepunham aos vértices agudos do losango correspondente à endentação, determinando o comprimento da maior diagonal e, conseqüentemente, os resultados da dureza KNOOP por meio do cálculo automático feito pelo *software* através da seguinte equação:

KHN = valor de dureza Knoop

$$KHN = \frac{C \times \text{carga}}{d^2}$$

C (constante) = 14.230

d^2

Carga = 25 g (dentina) ou 50 g (esmalte)

d = comprimento da maior diagonal

Foram consideradas as seguintes ocasiões:

✓ Antes do experimento analisou-se se o esmalte estava hígido e selecionou-se a amostra. A média do comprimento da diagonal maior das cinco endentações foi utilizada para excluir os blocos com microdureza fora do padrão (10% a mais ou a menos da média).

A microdureza mínima e máxima de todos os espécimes de esmalte variou de 309 a 397 KHN. Já para os espécimes de dentina a microdureza mínima e máxima variou respectivamente de 80,4 a 98,6 KHN. Alguns espécimes foram descartados por apresentarem trincas ou por não estarem totalmente paralelos após o polimento. Ao final foram selecionados 120 fragmentos melhores de cada tipo, ou seja, de esmalte ou dentina, sendo que os demais foram descartados.

Após o período experimental, novo teste foi realizado para obtenção da microdureza final.

Avaliou-se a porcentagem de perda de microdureza de superfície (%PDS) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%PDS = \frac{\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final} \times 100}{\text{microdureza inicial}}$$

4.4.7.2 Determinação da rugosidade superficial

Rugosidade superficial inicial

Para a realização das leituras de rugosidade superficial (após obtenção dos espécimes), foi utilizado o rugosímetro Hommel Tester T1000 basic (Hommelwerke GmbH ref. # 240851 – Schwenningem – Germany), que é um aparelho (Figura 2) de alta sensibilidade, com ponta apalpadora de diamante (Figura 3), a qual percorre uma superfície e pode ser acoplado ao aparelho que processa e interage as informações quantitativamente. Desta forma, os resultados são registrados imediatamente e digitalmente em visor de cristal líquido. Para este estudo, o rugosímetro foi conectado a um microcomputador que processava e armazenava todas as informações pertinentes aos ensaios. As leituras eram tomadas de forma a passar pelo centro da superfície de cada espécime, em sentido rotacional, de forma livre e aleatória^{134,169}, totalizando cinco leituras, das quais era obtida a média considerada como valor inicial. Regiões onde era nítido algum tipo de

irregularidade foram desconsideradas, procurando-se áreas visivelmente de maior regularidade.

O parâmetro R_a (μm) utilizado para obtenção da rugosidade superficial foi à rugosidade aritmética, que traduz o valor da média aritmética de todas as distâncias absolutas do perfil de rugosidade, calculada pelo *software* disponível no rugosímetro.

Para a determinação da rugosidade superficial dos espécimes o rugosímetro (Figura 14) foi ajustado nos parâmetros do próprio aparelho. Para tal, a ponta apalpadora do aparelho foi programada para realizar um percurso de 5mm (L_t = limite de tracejamento), em escala de 20 μm . Empregou-se o parâmetro de filtragem ou minimização das ondas de superfícies [Ponto de corte(*cut off*)- L_c = 0,25mm]. As modificações desses parâmetros propiciaram nitidez às mudanças ocorridas nas superfícies mensuradas de cada espécime, antes e após a ação erosiva (Figuras 8 e 9).

FIGURA 8- Perfil de rugosidade do espécime antes do desafio erosivo (lado controle)

FIGURA 9- Perfil de rugosidade superficial do espécime após desafio erosivo (lado experimental)

Rugosidade superficial final

As leituras de rugosidade superficial final foram realizadas exclusivamente na área submetida ao procedimento de erosão seguindo-se a mesma metodologia descrita para rugosidade superficial inicial. As diferenças dos valores entre as médias iniciais e finais foram consideradas como a alteração final da rugosidade.

4.4.7.3 Determinação do desgaste

Para as leituras de desgaste da superfície dos espécimes foi utilizado o mesmo aparelho, Hommel Tester T1000 basic (Hommelwerke GmbH ref. # 240851 – Schwenningem – Germany), usado na determinação da rugosidade superficial. Porém, para a mensuração dos valores de desgaste, foram utilizados outros parâmetros na programação do aparelho.

O rugosímetro foi conectado a um microcomputador que processava todas as informações pertinentes aos ensaios. Com o auxílio de um *software* do equipamento (Turbo Datawin-NT, Versão 1.34, Copyright © 2001), além dos dados específicos das rugosidades superficiais, foram obtidos também os perfis das superfícies testadas, sendo estes importantes para a ilustração e quantificação do desgaste. O perfil traçado pelo rugosímetro percorreu a superfície dos espécimes passando por áreas de esmalte hígido (protegido) e afetado, e como o esmalte polido não tratado (protegido- área de referência) se assemelhava muito a uma linha reta, tornava-se fácil à identificação da

região submetida aos tratamentos. Assim sendo, após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrômetros entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime (superfície de referência) e o pico de desgaste (Figura 10). Para cada espécime foram feitas cinco medições em diferentes áreas da interface entre esmalte ou dentina hígida e desgastada.

FIGURA 10 - Ilustração esquemática mostrando o desgaste dos espécimes testados. (A) início da leitura feita pelo rugosímetro; (B) final da leitura e (d) desgaste ocasionado pela erosão.

4.4.8 Análise Estatística

Aplicaram-se testes estatísticos para comparar os grupos sem e com bochecho, em esmalte ou dentina, para as três condições (erosão/

1min/30min). Foi utilizada inicialmente Análise de Variância (ANOVA) a 2 critérios (condição de erosão e ação do bochecho) para cada uma das variáveis (%PDS, rugosidade e perfil). As análises de variâncias foram aplicadas isoladamente para esmalte e dentina. Quando a resposta foi significativa, utilizou-se o teste de Tukey para cada fator individualmente dentro de cada variável.

Os dados também foram analisados por ANOVA a 3 critérios de medidas repetidas. Os critérios empregados foram: presença ou ausência de bochecho, substrato dentário (esmalte ou dentina) e três condições experimentais (erosão, erosão + abrasão 1 min, erosão + abrasão 30 min). Foram realizadas 3 ANOVAs, sendo uma para cada variável testada (%PDS, rugosidade e perfil). Quando a resposta foi significativa, utilizou-se o teste de Tukey para comparações individuais. O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%.

FIGURA 11 – Dispositivo intrabucal palatino

FIGURA 12– Microdurômetro acoplado ao computador

FIGURA 13 – Endentação em esmalte antes do desafio erosivo

FIGURA 14– Rugosímetro Hommel Tester T 1000

FIGURA 15– Medição do desgaste

FIGURA 16- Gráfico do perfil no computador

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
Baurão

5

Resultados

5 Resultados

A seleção da bebida mais erosiva sobre a superfície dentária foi realizada inicialmente baseando-se naquelas mais consumidas em estabelecimentos comerciais em Bauru. O estudo piloto relacionou como as bebidas mais consumidas: refrigerantes (40,00%), sucos (23,33%), bebidas alcoólicas (26,66%), energéticos (3,33%) e outros (6,66%). Entre as bebidas, os refrigerantes são os mais consumidos, sendo distribuídos em Coca-cola® (52,92%), Pepsi Twist® (11,70%), Guaraná Antártica® (10,76%), Coca-cola Light® (4,88%) e Sprite Diet® (4,88%) e outros (14,86%).

5.1 ESTUDO *IN VITRO*

Os refrigerantes foram analisados quanto à concentração de flúor, fosfato, capacidade tampão e pH (Tabela 1).

Os espécimes foram analisados quanto a microdureza inicial e final e a % de perda de dureza superficial (%PDS) correlacionada à ação erosiva das bebidas testadas (Tabela 2).

Entre as bebidas, a Sprite Diet® apresentou a maior capacidade tampão e a maior %PDS. Todas as bebidas testadas apresentaram alta concentração de flúor e fosfato, mas este fator não preveniu a perda mineral. A Coca-cola® proporcionou perda de dureza similar à da Sprite Diet® e o menor pH.

Houve uma correlação negativa entre a %PDS e o pH ($r=-0,819$) e positiva entre a %PDS e a concentração de flúor ($r=0,774$), conforme se observa na Tabela 3. Entretanto, estas correlações não foram estatisticamente significantes ($p>0,05$).

TABELA 1 - Média (dP) das quatro variáveis analisadas nos refrigerantes (concentração de flúor e fosfato, capacidade tampão e pH)

Bebidas*	Fosfato mmol/L	Flúor $\mu\text{g/mL}$	Capacidade Tampão mL NaOH	pH
G	0,086 (0,016)	0,078 (0,005)	0,175 (0,009)	3,2 (0,1)
P	3,837 (0,035)	0,077 (0,002)	0,275 (0,021)	3,5 (0,1)
CL	16,190 (0,012)	0,550 (0,012)	0,075 (0,005)	3,2 (0,0)
C	16,781 (0,012)	0,322 (0,014)	0,100 (0,010)	2,9 (0,1)
SD	0,225 (0,015)	0,561 (0,014)	0,375 (0,011)	3,6 (0,1)

* G- Guaraná®; P- Pepsi Twist®; CL-Coca Cola Light®; C- Coca Cola®; SD- Sprite Diet®

TABELA 2- Alteração nos valores da microdureza superficial (dP) durante o experimento *in vitro*, para os diferentes refrigerantes

Grupos	Antes da ciclagem	Após a ciclagem	% PDS
G	349(20)	116(31)	66,6 (8,1) ^a
P	349(19)	111 (25)	67,9 (7,1) ^{ab}
CL	349(19)	96 (16)	72,4 (5,1) ^{bc}
C	350 (19)	79 (15)	77,3 (4,3) ^{cd}
SD	349 (19)	75 (18)	78,4 (5,1) ^d
Total	349 (19)	96 (28)	72,5 (7,6)

TABELA 3- Coeficiente de correlação de Pearson para todos os grupos, relacionando a %PDS a outras variáveis de estudo

Variáveis	Fosfato	Flúor	Capacidade Tampão	pH
%PDS	r= 0,340 p= 0,576	r= 0,774 p= 0,125	r= 0,140 p= 0,822	r= - 0,819 p= 0,090

5.2 ESTUDO *IN SITU*

Para seleção dos voluntários realizou-se a análise de fluxo salivar estimulado e não estimulado (Anexo 5). Todos os voluntários apresentaram fluxo salivar estimulado e não estimulado normal.

Os resultados obtidos durante a etapa *in situ* serão apresentados separadamente de acordo com a metodologia aplicada. Foram realizadas as análises de microdureza, rugosidade e perfilometria.

5.2.1 Microdureza Superficial

Após as condições de erosão, pôde-se observar em todos os espécimes o aumento no tamanho das endentações e uma diminuição do polimento em relação ao esmalte hígido, antes e depois do desafio erosivo (Figuras 17 e 18).

FIGURA 17 – Endentação do esmalte hígido, observa-se a lisura da superfície e o tamanho da endentação

FIGURA 18- Endentação de um espécime de esmalte após a condição erosiva do grupo SB. Observa-se a alteração da superfície e o tamanho da endentação

Cada condição experimental foi representada por dois espécimes de cada tipo de substrato (esmalte e dentina) por voluntário. A porcentagem de perda de microdureza, apresentada nos anexos foi obtida a partir da média da perda de cada um deles. O valor da média e desvio padrão das 5 endentações iniciais e finais utilizadas para obtenção da porcentagem de perda de dureza individual dos espécimes está em anexo (Anexos 6, 8, 10, 12).

A Tabela 4 mostra que houve diferença significativa na %PDS, sendo significativa em esmalte para os grupos SB e CB ($F=9,21$, $p<0,05$) e entre as 3 condições experimentais ($F=4,29$, $p<0,05$). Para a interação entre os critérios SB e CB e as 3 condições testadas houve diferenças significativas ($F=4,11$, $p<0,05$) (Anexo 14). Entre os grupos SB e CB para a condição de erosão houve diferença significativa, sendo que o grupo CB apresentou menor perda de dureza. As condições 1 min e 30 min não apresentaram diferenças significativas. No grupo SB houve diferença significativa entre erosão e 30 min. No grupo CB não houve diferença significativa entre as 3 condições experimentais.

Já para a dentina (Tabela 5) não houve diferença significativa entre os grupos SB e CB e as 3 condições experimentais (Anexo 15).

TABELA 4- Perda média de dureza superficial (%) do esmalte ($\pm$ dP), submetido ou não ao bochecho com a solução de FeSO_4 a 10 mmol/L nas 3 condições experimentais

Condições	Sem bochecho	Com bochecho
	Esmalte	Esmalte
Erosão	$-80,80 \pm 3,62^{a,A}$	$68,37 \pm 7,45^{b,A}$

1 Min	$-76,05 \pm 6,52^{a,AB}$	$69,90 \pm 6,58^{a,A}$
30 Min	$-70,79 \pm 7,67^{a,B}$	$68,31 \pm 8,39^{a,A}$

n=10. *Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as condições experimentais ($p < 0,05$).

TABELA 5- Perda média de dureza superficial (%) da dentina ($\pm dP$), submetida ou não ao bochecho com a solução de $FeSO_4$ a 10 mmol/L nas 3 condições experimentais

Condições	Sem bochecho	Com bochecho
	Dentina	Dentina
Erosão	$-46,09 \pm 14,45$	$-41,66 \pm 17,49$
1 Min	$-35,07 \pm 11,95$	$-41,18 \pm 13,44$
30 Min	$-40,30 \pm 11,98$	$-40,06 \pm 11,26$

n=10. * Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

FIGURA 19 – Perda de dureza em esmalte, sob as três condições experimentais

Para os blocos de esmalte, o uso do bochecho com a solução de FeSO_4 proporcionou uma menor perda de dureza, que diferiu significativamente ($p < 0,05$) quando comparada à situação sem bochecho, para o fator erosão.

FIGURA 20– Perda de dureza em dentina, sob as três condições experimentais

A Figura 21 mostra a %PDS analisada pela ANOVA a 3 critérios, relacionando os grupos SB e CB, sub-grupo E e D, e as 3 condições experimentais. Houve uma % PDS significativamente maior para o esmalte, quando comparado com a dentina ($F=139,65$, $p<0,0001$), independentemente dos demais critérios. Para os critérios presença ou ausência de bochecho e condição experimental não houve diferenças significativas entre os grupos ($F=2,56$, $p=0,127$ e $F=2,45$, $p=0,100$), respectivamente. A interação entre os critérios também não foi significativa ($F=0,72$, $p>0,05$).

Efeito	GL efeito	QM efeito	GL erro	QM erro	F	p
1	1	320,20	18	125,10	2,56	0,127
2	1	30037,47	18	215,09	139,65	0,000*
3	2	220,22	36	89,76	2,45	0,100
12	1	422,03	18	215,09	1,96	0,178
13	2	204,47	36	89,76	2,28	0,117
23	2	81,59	36	88,07	0,93	0,405
123	2	63,12	36	88,07	0,72	0,495

FIGURA 21- Análise de variância a 3 critérios para microdureza superficial:

1=SB e CB; 2=Esm/Dent, 3=Eros/1min/30min

TABELA 6- Teste de Tukey (3 critérios) para esmalte/dentina, sob as três condições (123)

	Esmalte	Dentina	p
Grupo-Esm/Dent/123	-72,37	-40,73	0,0001*

Conforme se observa na Tabela 6, o esmalte apresentou maior perda de dureza independente do grupo ou condição experimental quando comparado com a dentina.

5.2.2 Rugosidade

A variação na rugosidade superficial não foi significativa em esmalte, para o grupo SB e CB ($F=0,05$, $p=0,827$) e entre as 3 condições experimentais ($F=2,53$, $p=0,093$), como se pode observar na Tabela 7. A interação entre os critérios também não foi significativa ($F=0,38$, $p=0,686$) (Anexo 18).

Para a dentina a variação na rugosidade superficial não foi significante entre os grupos SB e CB ($F=0,74$, $p=0,399$), mas foi significante entre as 3 condições experimentais ($F=4,47$, $p=0,018$). Houve uma interação significativa entre os critérios ($F=3,60$, $p=0,037$) (Anexo 18). Nas condições erosão e 1 Min não houve diferenças significativas entre os grupos. Já na condição 30 Min o uso do bochecho reduziu significativamente a rugosidade. No grupo SB a rugosidade para a condição 30 Min foi significativamente maior que para as demais condições, que não diferiram significativamente entre si. Só no grupo CB, não houve diferença significativa entre a 3 condições (Tabela 8).

TABELA 7– Rugosidade superficial (μm) do esmalte ($\pm\text{dP}$), submetido ou não ao bochecho com FeSO_4 10 mmol/L nas 3 condições experimentais

Condições	Sem bochecho	Com bochecho
	Esmalte	Esmalte
Erosão	-0,08 $\pm$ 0,23	-0,19 $\pm$ 0,43
1 Min	0,02 $\pm$ 0,39	0,05 $\pm$ 0,28
30 Min	-0,16 $\pm$ 0,28	-0,14 $\pm$ 0,20

n=10. * Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$).

TABELA 8– Rugosidade superficial (μm) da dentina ($\pm\text{dP}$), submetida ou não ao bochecho com FeSO_4 10 mmol/L nas 3 condições experimentais

Condições	Sem bochecho	Com bochecho
	Dentina	Dentina
Erosão	0,05 $\pm$ 0,41 ^{a,A}	-0,04 $\pm$ 0,19 ^{a,A}
1 Min	-0,01 $\pm$ 0,26 ^{a,A}	0,04 $\pm$ 0,27 ^{a,A}
30 Min	-0,30 $\pm$ 0,23 ^{a,B}	-0,03 $\pm$ 0,15 ^{b,A}

n=10. * Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as condições experimentais ($p<0,05$).

FIGURA 22– Variação da rugosidade superficial em esmalte (µm) das três condições testadas após desafio erosivo

FIGURA 23- Variação da rugosidade superficial em dentina (µm) das três condições testadas após desafio erosivo

A Figura 24 mostra a variação da rugosidade superficial, analisada pela ANOVA a 3 critérios, relacionando os grupos SB e CB, sub-grupos E e D e as 3 condições experimentais. Houve diferença significativa na rugosidade superficial. Para o critério presença ou ausência de bochecho não houve diferenças significativas entre os grupos ($F=0,18$, $p=0,672$). O mesmo ocorreu para os sub-grupos E e D ($F=0,29$, $p=0,597$). No entanto houve diferença significativa entre as condições experimentais ($F=5,23$, $p=0,01$), sendo que o teste de Tukey apontou diferença significativa apenas para a condição 1 Min, quando comparada com a 30 Min. Não houve interação significativa entre os critérios ($p>0,05$).

Efeito	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	0,02	18	0,13	0,18	0,672
2	1	0,03	18	0,11	0,29	0,597
3	2	0,34	36	0,06	5,23	0,010*
12	1	0,07	18	0,11	0,62	0,441
13	2	0,16	36	0,06	2,42	0,103
23	2	0,08	36	0,07	1,24	0,302
123	2	0,04	36	0,07	0,61	0,549

FIGURA 24- Análise de variância a 3 critérios para rugosidade superficial:

1=SB e CB; 2=Esm/Dent; 3=Eros/1min/30min

TABELA 9- Teste de Tukey para esmalte/dentina, sob as três condições experimentais (123)

	Erosão	1 Min	30 Min	p
Grupo- Esm/Dent-123	-0,064	0,027*	-0,156*	0,007*

Houve diferença significativa em relação à condição abrasão após 30 minutos e 1 minuto, e não significativa em relação à erosão.

5.2.3 Desgaste

As condições erosivas visivelmente provocaram alteração na superfície tanto em esmalte como em dentina e, a diferença de translucidez entre as superfícies desgastadas e protegidas por esmalte cosmético pôde ser observada a olho nu, em todos os grupos. O desgaste foi quantificado pela diferença numérica entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime (superfície de referência) e o pico da queda (desgaste). Os gráficos traçados pela análise do perfil confirmam esta observação, pois neles a região protegida se apresentava como uma linha reta, em seguida ocorria uma queda em diferentes graus dependendo do

grupo experimental a que o espécime pertencia e se formava uma outra reta com grandes irregularidades, correspondente à área desgastada.

Cada condição experimental foi representada por dois espécimes de cada tipo de substrato (esmalte e dentina) por voluntário. O valor do desgaste (μm), apresentado nos anexos, foi obtido a partir da média de desgaste de cada um deles. O desgaste individual dos espécimes foi obtido por meio do valor da média e do desvio padrão de 5 leituras do perfil.

A Tabela 10 mostra que a perda de massa (perfil) não foi significativa em esmalte, para os grupos SB e CB ($F=3,01$, $p=0,099$) e entre as 3 condições experimentais ($F=0,09$, $p=0,915$), não havendo interação significativa entre os critérios ($F= 1,21$, $p=0,310$) (Anexo 26).

Para a dentina, houve diferença significativa entre os grupos SB e CB ($F=5,81$, $p=0,027$) (Anexo 26), sendo que o grupo CB apresentou menor perda de massa (Tabela 11).

TABELA 10– O desgaste (μm) do esmalte ($\pm\text{dP}$), submetido ou não ao bochecho com FeSO_4 10 mmol/L nas 3 condições experimentais

Condições	Sem bochecho	Com bochecho
	Esmalte	Esmalte
Erosão	9,30 $\pm$ 6,133	8,56 $\pm$ 4,08
1 Min	10,70 $\pm$ 4,014	7,14 $\pm$ 2,64
30 Min	10,28 $\pm$ 4,614	6,81 $\pm$ 3,28

n=10. * Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$).

TABELA 11- O desgaste (μm) da dentina ($\pm\text{dP}$), submetida ou não ao bochecho com FeSO_4 10 mmol/L nas 3 condições experimentais

Condições	Sem bochecho ^A	Com bochecho ^B
	Dentina	Dentina
Erosão	8,04 $\pm$ 5,228	5,12 $\pm$ 2,468
1 Min	6,75 $\pm$ 3,430	5,68 $\pm$ 2,211
30 Min	6,13 $\pm$ 1,844	3,41 $\pm$ 1,692

n=10. * Letras diferentes indicam significância estatística ($p<0,05$).

FIGURA 25 – Desgaste médio (μm) em esmalte, observado em todos os grupos, com e sem bochecho

FIGURA 26 – Desgaste médio (μm) em dentina, observado em todos os grupos, com e sem bochecho

A Figura 27 mostra a perda de massa (perfil), analisada pela ANOVA a 3 critérios, relacionando grupo SB e CB, sub-grupo E e D, e as 3 condições experimentais. Houve diferença significativa entre os grupos ($F=5,11, p=0,036$) e entre os sub-grupos ($F=21,38, p=0,000$), mas não entre as condições experimentais ($F=1,04, p=0,361$). Também não houve interação significativa entre os critérios ($p>0,05$). O teste de Tukey revelou que a perda de massa foi significativamente menor quando da realização de bochecho. Também a perda de massa para dentina foi significativamente menor que para o esmalte.

Efeito	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	174,78	18	34,18	5,11	0,036*
2	1	259,96	18	12,16	21,38	0,000*
3	2	13,75	36	13,14	1,04	0,361
12	1	0,92	18	12,16	0,08	0,786
13	2	4,09	36	13,14	0,31	0,734
23	2	5,52	36	5,11	1,08	0,350
123	2	13,91	36	5,11	2,72	0,079

FIGURA 27- Análise de variância a 3 critérios para desgaste: 1=SB e CB;

2=Esm/Dent, 3=Eros/1min/30min

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos CB e SB e entre os sub-grupos esmalte e dentina. O grupo SB independente da condição sofreu maior perda de massa quando com parado ao CB (Tabelas 12 e 13).

TABELA 12- Teste de Tukey para SB e CB, sob as três condições experimentais (123)

	SB	CB	p
Esm/Dent-123	8,534	6,120	0,036*

TABELA 13- Teste de Tukey para esmalte e dentina em relação ao desgaste (μm), sob as três condições experimentais (123)

	Esmalte	Dentina	p
SB/CB- 123	8,799	5,855	0,000*

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
BAURUR

6

Discussão

6 Discussão

6.1 ESTUDO *IN VITRO*

A etapa *in vitro* analisou os cinco refrigerantes mais consumidos, a Coca-cola, a Pepsi Twist®, a Coca-cola Light®, o Guaraná Antártica® e o Sprite Diet® e seu efeito erosivo sobre espécimes bovinos.

GRANDO et al.⁵⁷ realizaram um estudo *in vitro* da erosão causada por refrigerantes e suco de limão no esmalte de dentes decíduos humanos. Os pHs médios dos produtos foram, respectivamente, 2,50, 2,60 e 3,30 para o suco de limão, Coca-cola® e Guaraná®. Todos os produtos testados demonstraram ser potencialmente erosivos, sendo que o suco de limão causou maiores perdas de cálcio e fosfato inorgânico, seguido pela Coca-cola® e pelo Guaraná®. Estes achados foram confirmados na primeira etapa deste estudo, na qual das bebidas testadas a que teve a ação mais erosiva foi o Sprite Diet®, seguida pela Coca-cola® e o Guaraná® foi o que apresentou o menor efeito erosivo¹⁴⁹.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o Sprite Diet® e a Coca-cola® quanto à %PDS. O refrigerante selecionado então para a pesquisa foi a Coca-cola® por ser a bebida mais consumida por jovens.

O Sprite Diet® e a Coca-cola® apresentaram a maior capacidade tampão e o menor pH, respectivamente, dentre os refrigerantes analisados. Segundo LARSEN; NYVAD⁹⁵ a capacidade de uma bebida ácida causar erosão no esmalte dentário não depende somente do seu pH, mas também de sua capacidade tampão. Como esta é a habilidade da bebida em resistir a uma alteração de pH, pode se somar aos efeitos do pH.

A literatura é contraditória a respeito do potencial erosivo de bebidas contendo ácido cítrico ou ácido fosfórico. Alguns estudos têm demonstrado que as bebidas contendo ácido cítrico são mais erosivas que as que contêm ácido fosfórico^{71,120}, enquanto outros demonstraram o contrário^{79,160}.

O componente ácido das formulações pode ser comparado, sendo que o ácido cítrico é mais erosivo que o ácido fosfórico¹⁷⁶. O fato da Coca-cola® apresentar o pH menor (2,9) teve um efeito similar na perda de dureza quando comparada com o Sprite Diet® (pH=3,6). É provável que a diferença no conteúdo de fosfato (Tabela 1) e também os diferentes tipos de ácidos, já que a Coca-cola® tem ácido fosfórico e o Sprite Diet® tem ácido cítrico, possam ter efeito no processo erosivo.

No entanto, conhecer o ácido não é suficiente para determinar o desenvolvimento da erosão, que ocorrerá diante de um desequilíbrio entre seu consumo e a capacidade protetora do organismo, representada principalmente pela saliva^{80,107,124}.

Tem sido demonstrado que *in vivo* a capacidade tampão de diferentes bebidas é importante em sua ação erosiva¹⁰³.

Entretanto, no presente estudo não foi observada correlação significativa entre a % PDS e a capacidade tampão das bebidas, assim como entre a % PDS e o pH. De fato, foi encontrada correlação negativa entre estas duas últimas, mas sem diferenças estatisticamente significativas.

Após a ação erosiva do refrigerante foi utilizada saliva artificial para remineralização. Tem sido demonstrada a ação da saliva como agente efetivo para o reendurecimento do esmalte dentário amolecido, em vários estudos *in vitro*^{11,12,13,91}. A saliva artificial foi utilizada no lugar da saliva humana para minimizar a influência possivelmente exercida pela variação na composição da saliva humana coletada de diferentes fontes.

LARSEN; RICHARDS⁹⁷ demonstraram em um estudo *in vitro* que o flúor adicionado a bebidas, em concentração sem risco toxicológico, não é capaz de reduzir o desenvolvimento da erosão. É preferível que haja baixa concentração de flúor nas bebidas, mesmo que este não afete a %PDS da lesão erodida, pois poderia haver um consumo exagerado e, sem controle por crianças, o que poderia causar aumento na incidência de fluorose dentária. O Sprite Diet® foi a bebida que apresentou a maior concentração de flúor e a maior %PSD. Este fator pode ter contribuído para a ocorrência da correlação positiva entre %PDS e conteúdo de flúor na bebida, apesar da correlação não ter sido estatisticamente significativa.

Na literatura, a ação do flúor na erosão dentária tem sido apresentada de forma controversa^{71,116,157,159}. Devido à ação do flúor ocorrer de forma combinada com outros íons da hidroxiapatita (cálcio e fosfato) e em concentrações saturantes em relação a fluorapatita, não parece provável que o flúor sozinho tenha a capacidade de suprimir a erosão⁹⁴. Entretanto mais estudos são necessários para esclarecer este mecanismo. É possível que o aumento da concentração de flúor na bebida possa contribuir para reduzir o potencial erosivo dos refrigerantes⁹⁷, mas por outro lado, isso poderia aumentar a incidência de fluorose, tornando esta opção inviável.

Neste estudo, nenhum íon inorgânico analisado teve algum efeito observado na ação erosiva da bebida.

Guaraná é um refrigerante tipicamente brasileiro. O extrato do guaraná é obtido da *Paullinia cupana* (Sapindaceae) e tem ampla reputação como uma bebida estimulante ou suplemento nutricional em condições de estresse físico e emocional^{31,47,51,69}.

O guaraná foi a bebida que apresentou o menor potencial erosivo, com menor %PDS. As variáveis avaliadas neste estudo como pH, capacidade tampão e concentração de fosfato e de flúor, não puderam explicar esta significativa redução na %PDS quando o guaraná foi testado.

Deste modo, outros componentes dessa bebida podem ter um efeito protetor contra a erosão dentária. O pó da semente é rico em cafeína, além de conter flavonóides e taninos^{22,24,32,101,145}.

Taninos têm sido descritos por apresentar propriedades anticariogênicas, as quais ocorreriam por 2 mecanismos: agindo na inibição da síntese de glucanos insolúveis em água pela glicosiltransferase dos estreptococos mutans e na adesão de células bacterianas sacarose-dependente^{88,180}. Não existe nenhum estudo relacionando a presença de taninos em alimentos e bebidas ao seu efeito na erosão dentária.

Estudos *in vitro* são necessários para identificar os componentes que podem estar envolvidos na redução da perda de dureza do esmalte após a ação erosiva desta bebida.

Os resultados permitem afirmar que entre as variáveis testadas, o pH parece ser a mais relacionada com o potencial erosivo de bebidas ácidas. Estudos futuros *in situ* e *in vivo* devem avaliar o potencial erosivo do Guaraná.

6.2 ESTUDO *IN SITU*

6.2.1 Delineamento

O estudo da erosão dentária é complexo, pois assim como a cárie dentária, ela apresenta uma etiologia multifatorial^{107,124}. Os principais fatores envolvidos são os ácidos, com valores de pH menores que 4, e as características do hospedeiro^{107,124}. Os ácidos provenientes do próprio

organismo, denominados endógenos, e os de origem externa, exógenos, provenientes do meio ambiente ou de alimentos, podem estar ativamente envolvidos em sua etiologia^{80,150,184}. O único ácido que não interfere na ocorrência da erosão, é aquele que resulta do metabolismo bacteriano¹⁸⁴.

O objetivo deste estudo foi propor estratégias preventivas, baseadas no uso do sulfato ferroso, para diminuir as alterações dentárias provocadas pela erosão e/ou pela sua associação à abrasão. A proposição se pautou na utilização de uma bebida erosiva, identificada no estudo *in vitro*, que fosse de alto poder erosivo e grande consumo, sobretudo entre a população mais jovem.

O Sprite Diet® foi o refrigerante de maior potencial erosivo, mas não apresentou diferença significativa quando comparada à Coca-cola®.

A bebida utilizada neste estudo foi a Coca-cola®, que é a mais consumida e foi capaz de provocar erosão no substrato dentário *in vitro*. Esta característica confirmada na etapa *in vitro*, em consonância com a literatura^{95,103,105,107,109,115,148,176}.

Os modelos *in vitro* são muito importantes para determinar as características químicas e erosivas de diversas bebidas^{7,27,45,58,103,105,184}, mas não são capazes de simular os vários fatores que agem na boca para equilibrar a ação dos ácidos exógenos, tais como a saliva e a película adquirida.

No ser humano, a saliva é encontrada sob estimulação e não estimulação, cada qual apresentando diferentes características³⁶. Estas diferenças não são consideradas nos estudos *in vitro*, que na maioria das vezes utilizam a saliva estimulada¹⁴⁸.

Diante destas constatações, os modelos *in situ*, idealizados por KOLOURIDES et al.⁹³, para estudos de Cariologia, foram adaptados para o estudo da erosão, apresentando grandes vantagens em relação aos estudos laboratoriais.

O modelo *in situ* permite simular eventos intrabucais e simultaneamente padronizar as condições experimentais. Em um curto intervalo de tempo, permite o desenvolvimento de alterações nos espécimes, em função do desafio erosivo^{1,7,61,90,147,174}.

Desta forma, como um dos principais objetivos deste trabalho foi avaliar a ação do bochecho com a solução de sulfato ferroso como medida para redução da erosão dentária e o efeito sinérgico com a abrasão, o modelo *in situ* foi escolhido pela melhor simulação do fenômeno *in vivo*.

6.2.1.1 Considerações sobre os voluntários e o protocolo de pesquisa

Para realização deste modelo selecionaram-se 10 voluntários, cujos critérios de exclusão, já descritos, foram propostos por WEST et al.¹⁷⁴, aos quais se acrescentaram avaliações salivares.

Uma das maiores dificuldades relatadas dos modelos *in situ* é a colaboração e o seguimento do protocolo pelos voluntários¹⁸³. Para tentar minimizar este viés, foram utilizados alunos de pós-graduação do curso de Odontologia, para que houvesse uma maior responsabilidade e comprometimento com o estudo.

Além disso, para garantir a execução correta do experimento pelos voluntários, a primeira imersão do dispositivo palatino no copo com a bebida foi realizada em conjunto, quando todos os passos foram orientados pela pesquisadora.

Os resultados não demonstram variabilidade significativa no esmalte, como se pode observar nas Tabelas 15 e 16 e nas Figuras 31 e 32 (Anexos), na perda de dureza superficial, após a ação erosiva da bebida, entre os voluntários. Este dado difere de outros achados na literatura^{1,77,146}. HUGHES et al.⁷⁴ sugeriram que a grande variabilidade no desgaste seria resultante da diferença de susceptibilidade individual. AMAECHI et al.⁶ atribuem a variabilidade da susceptibilidade dos indivíduos à erosão a

variabilidade de espessura de película adquirida formada, o que proporciona diferentes graus de proteção.

Já para o desgaste em dentina neste estudo, houve uma variabilidade maior entre os voluntários, que pode ser atribuída a fatores biológicos individuais. A dentina é um tecido dentário que apresenta grande variabilidade quanto à dureza superficial como ao desgaste, muito possivelmente relacionada à sua formação.

Em relação ao número de voluntários para um estudo *in situ*, não existem regras rígidas¹⁸³. Com base em outros trabalhos de erosão^{1,64,72,90,174}, nos quais foi utilizado o mesmo modelo, adotou-se uma amostra de 10 indivíduos.

WEST et al.¹⁷⁵ e HUGHES et al.⁷⁶, afirmaram que é possível encontrar resultados quantitativos na erosão do esmalte após 5 dias de consumo das bebidas testadas. A duração de cada etapa foi formulada a partir dos achados de WEST et al.¹⁷⁴, que demonstraram que após esse período de desafio erosivo, com a utilização da bebida 4 vezes ao dia, já se poderia detectar desgaste dentário. Este estudo utilizou 5 dias em cada etapa com um intervalo de 7 dias entre as fases.

A frequência de 4 imersões diárias do aparelho na bebida ácida por 5 minutos vai de encontro a dados anteriores da literatura^{76,78,146,174}. Em estudo *in vitro*, MEURMAN et al.¹¹⁴, demonstraram que o tempo de 5 minutos de imersão do esmalte em bebida à base de cola promoveu uma

desmineralização significativa, enquanto o tempo de 1 minuto não causou desmineralização. Por essa razão, adotou-se o tempo de imersão na bebida por 5 minutos.

Para que os voluntários não fossem expostos ao desgaste erosivo, optou-se pela imersão do aparelho na bebida fora da boca, o que também foi realizado por ATTIN et al.¹⁴ e RIOS¹⁴⁶. Esta forma de utilização do refrigerante não seria a mais adequada para simular o que ocorre na boca, pois durante a ingestão, há uma diluição da bebida pela saliva e ação do tampão bicarbonato³⁷. Além disso, a bebida ácida gera um aumento do fluxo salivar da glândula parótida, que retorna aos níveis normais após 6 minutos e provoca uma queda no pH, abaixo do valor crítico, por aproximadamente 2 minutos¹²².

Estudos anteriores demonstraram que para que ocorresse a resistência à abrasão do esmalte desmineralizado seria necessário esperar pelo menos 1 hora após o desafio erosivo^{13,81}.

A abrasão causada pela escovação após a erosão em dentina foi avaliada em um estudo *in situ*, realizado por ATTIN et al.¹⁶, que demonstraram que após um período de 30 a 60 minutos da recolocação do aparelho na boca, não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao desgaste dentário, quando comparado ao grupo controle que só sofreu erosão. Concluíram que para a proteção da dentina seria necessário um mínimo de 30 minutos de intervalo entre o ataque erosivo e a escovação.

Na etapa *in situ* deste estudo foram utilizados espécimes humanos de esmalte e de dentina, para investigar o sinergismo entre erosão e abrasão. Adotaram-se os tempos de 1 minuto e 30 minutos para a realização da escovação.

A escovação foi realizada fora da boca para possibilitar a sua ação sobre um grupo, sem que o outro fosse atingido ou contaminado por dentifício¹⁴. Foram utilizadas escovas infantis, de cabeça pequena, as quais foram repostas em cada etapa, para que as condições de desgaste das cerdas não interferissem nos resultados.

Não há evidências conclusivas quanto à influência do biofilme dentário no fenômeno erosivo. Existe a hipótese que a erosão ocorre em superfícies onde não há desenvolvimento de biofilme dentário. Por outro lado, relata-se que o próprio biofilme dentário poderia funcionar como barreira de difusão de ácidos, diminuindo o progresso da erosão¹³⁷.

Os estudos *in situ* relacionados à erosão procuram eliminar o biofilme dentário dos espécimes, para que não haja dúvida de que as alterações superficiais resultantes tenham sido provocadas pela erosão e não pela cárie dentária¹⁴⁶.

O presente estudo utilizou a clorexidina, devido às suas vantagens comprovadas como ação bactericida e bacteriostática, por não remover a película adquirida e por apresentar um pH neutro (6,8) ¹⁶⁸.

A utilização de dispositivos intrabuciais, como o modelo *in situ* é reconhecido como uma alternativa viável entre as limitações das controladas avaliações laboratoriais e a complexidade dos estudos clínicos¹⁸³.

Neste estudo procurou-se estabelecer uma relação entre os grupos SB e CB, dois tipos de substrato (esmalte e dentina) e três condições de erosão, quanto a microdureza, rugosidade e desgaste.

O dispositivo intrabucal utilizado pelos voluntários foi uma placa palatina removível. Como vantagem da placa pode-se afirmar que esta proporciona aos espécimes uma localização próxima à face lingual dos incisivos centrais superiores, correspondente aos dentes com maior incidência e severidade de erosão, simulando desta forma a região mais susceptível a esta alteração⁵⁰. A desvantagem relaciona-se à ação da língua, pois os espécimes podem sofrer uma carga adicional de desgaste pela abrasão oriunda do contato lingual⁸². Esta desvantagem seria extremamente influente neste estudo. Na tentativa de minimizar esta interferência, alguns cuidados foram tomados. Inicialmente, os espécimes foram posicionados abaixo da papila incisiva, região correspondente ao local de repouso da língua, ou seja, quando o indivíduo não está falando, normalmente posiciona a ponta da língua na papila incisiva¹⁴⁶. Por outro lado, no início do experimento quando foram entregues os aparelhos, os voluntários foram instruídos por escrito e verbalmente para não encostarem, tampouco tatearem os espécimes com a língua. Esta recomendação foi seguida por

todos os voluntários durante o experimento, respeitando a instrução dada. Outro cuidado tomado foi a alternância de localização dos espécimes correspondentes às condições experimentais testadas, em diferentes fileiras horizontais na placa palatina.

Os resultados sugerem que a língua não foi capaz de influenciar o modelo estudado. A condição da erosão poderia apresentar um desgaste acentuadamente maior dependendo de sua localização no aparelho. No entanto, os resultados entre as condições de erosão (erosão, 1 min, 30 min) não mostraram diferença estatisticamente significativa para o desgaste, seja em esmalte ou dentina. RIOS¹⁴⁶, em 2004, encontrou no grupo da erosão maior homogeneidade de desgaste e menor desvio padrão.

A placa palatina removível pode resultar em diferenças no acesso da saliva e formação da película adquirida. A capacidade da saliva remineralizar o esmalte dentário submetido à erosão foi avaliada por AMAECHI, HIGHAM⁸. Diferentes locais da boca foram analisados, e os espécimes posicionados por palatino sofreram menor remineralização do que os espécimes por lingual.

AMAECHI; HIGHAM⁸ e NIEUW-AMERONGEN; ODERKERK; DRIESSEN¹²⁷ investigaram a película adquirida formada proveniente de diferentes glândulas salivares com o intuito de observar se possuíam a mesma capacidade protetora contra a desmineralização. Os resultados suscitaram a hipótese de que a saliva da glândula parótida apresenta maior

ação sobre os dentes superiores e a das glândulas sublinguais e submandibulares sobre os inferiores.

Pode-se sugerir que o presente estudo usando o modelo *in situ* com placa palatina esteve sobre uma ação maior da saliva da glândula parótida, o que pressupõe uma menor capacidade protetora, por apresentar uma pequena quantidade de mucina⁷⁴.

O posicionamento dos espécimes dentro da placa palatina também pode resultar em diferenças no acesso da saliva, pois os mais próximos da saída do ducto da glândula parótida, na área de 1º molar superior, estiveram mais expostos à saliva e sua ação. Já os espécimes localizados anteriormente não tiveram acesso à saliva na mesma proporção.

Para evitar viés no modelo de estudo quanto à localização dos espécimes, houve um rodízio de posicionamento das condições experimentais, em diferentes fileiras horizontais, de um voluntário para o outro. E dentro destas, ou seja, fileiras, havia rodízio do posicionamento de espécimes de esmalte e de dentina.

A saliva e a película adquirida são os principais aspectos de um modelo *in situ*. O tempo necessário para formação da película adquirida é muito questionável na literatura. AMAECHI et al.⁷ propõem o período de 1 hora para a formação da película adquirida, FUSHIDA; CURY⁵⁰ instalaram os aparelhos 2 horas antes do início do experimento, para a formação da

película adquirida. Este estudo propôs que os voluntários dormissem no dia anterior ao experimento com o aparelho e na manhã seguinte iniciassem o experimento, resultando em um período de aproximadamente 8 horas. A maturação da película é importante para que ela exerça ação protetora diante de um ataque erosivo. Esta maturação ocorre em um tempo médio de 24 horas^{8,62,127}. No entanto, a função protetora da película adquirida deve ser considerada neste estudo, juntamente com os procedimentos de higiene bucal, pois foi demonstrado que o efeito protetor da película é menor, quando os dentes são escovados com dentifrícios abrasivos⁹⁹.

Parece claro que os indivíduos utilizam um tempo e uma frequência de escovação, além da ingestão de alimentos ácidos, que promovam uma renovação constante da película adquirida em detrimento à sua maturação, resultando em uma proteção parcial contra ataques erosivos. O presente estudo utilizou um intervalo mínimo de duas horas para a execução de outro desafio erosivo/abrasivo, possibilitando sua formação, mas não sua maturação.

6.2.1.2 Considerações sobre o uso do Ferro

As possibilidades de uso do Fe, para reduzir a erosão dentária ainda não foram propostas na literatura científica. Assim o presente estudo

objetivou investigar, em caráter pioneiro, uma medida preventiva utilizando o bochecho com a solução de FeSO_4 a 10 mmol/L para aumentar a ação remineralizadora e diminuir o desgaste do esmalte e da dentina submetidos às condições de erosão associada ou não à abrasão.

TORELL¹⁶⁶ ressaltou a possibilidade do efeito do ferro na redução da desmineralização do esmalte causada por ácidos. PECHARKI et al.¹⁴⁰ avaliaram o efeito da sacarose co-cristalizada com Fe no biofilme dentário e na desmineralização do esmalte *in situ*. Os autores concluíram que a co-cristalização do ferro com a sacarose reduz a desmineralização associada a este carboidrato. Relacionaram o efeito do ferro à redução de estreptococos mutans no biofilme dentário formado.

BROOKES et al.²⁶ utilizaram FeSO_4 a 10 mmol/L para inibir a desmineralização, e observaram que este composto inibiu em 51% a dissolução da hidroxiapatita sintética, além de oferecer grande proteção reduzindo em 49% a perda mineral. Os resultados demonstraram que o ferro é capaz de inibir a desmineralização influenciando o controle químico da dissolução mineral. Ressalte-se que estes autores utilizaram um modelo de estudo abiótico, cujas condições seriam comparáveis à erosão dentária. Com base no estudo de BROOKES et al.²⁶, propusemos-nos a avaliar o efeito do bochecho com solução de FeSO_4 na redução da erosão e da erosão associada à abrasão, num modelo *in situ*. Este estudo é, portanto, o primeiro a utilizar o Fe na minimização do efeito sinérgico entre erosão e abrasão.

6.2.2 Metodologia e Resultados

Na literatura são encontradas diversas formas para a avaliação de desgaste, tanto quantitativamente como qualitativamente: microscopia eletrônica de varredura², perfilometria⁹⁸, rugosidade superficial¹⁷¹ e, uso de isótopos radioativos⁶⁰. Os métodos empregados neste experimento, para determinar as alterações sofridas após o uso do refrigerante associado ou não à ação do bochecho e da escovação foram a microdureza, a perfilometria e a rugosidade superficial.

A microdureza avalia a dureza superficial de um espécime que é diretamente relacionada ao seu conteúdo mineral¹⁸². O teste de microdureza de superfície mensura comprimento das endentações em diferentes sítios a partir de uma ponta de diamante, com dimensões conhecidas, que é pressionada na superfície do esmalte com uma determinada força e tempo. É um método mecânico, sítio-dependente e específico que mensura uma possível perda ou ganho de mineral pelo tamanho da endentação, porém não permite a avaliação da localização e distribuição de minerais, bem como a perda de estrutura em altura (desgaste)¹⁸³. Para possibilitar a realização da endentação, o espécime deve apresentar uma superfície plana e lisa que permita a leitura correta da marca realizada pela ponta de diamante, pois através da medida da marca. Utilizando-se equações matemáticas chega-se ao valor da dureza. Tem a desvantagem de exigir como pré-requisito a planificação do esmalte, o que leva a uma maior propensão à erosão^{52,115,148}.

Diferentes autores usaram a microdureza para avaliar a erosão provocada em substrato dentário^{50,72,90,103,104,146}. No entanto, a dureza pode levar a interpretações incorretas, principalmente quando se estuda erosão associada à abrasão. Nestes casos, a erosão provoca um enfraquecimento do esmalte, o qual apresentará uma dureza menor, e ficará mais susceptível à perda de estrutura dentária por forças mecânicas, como a escovação. Quando ocorre esta perda de estrutura, atinge-se uma área mais resistente, com maior dureza. Desta forma, os valores de dureza são maiores, o que poderia ser interpretado como maior resistência à erosão. Houve uma relação inversa, o espécime sofreu maior desgaste, atingiu uma superfície de maior dureza¹⁴⁶.

Na perfilometria, o perfil do espécime é traçado em um gráfico. Para que este método seja utilizado no estudo da erosão, é necessária uma superfície plana e uma área de referência. O espécime deve estar planificado e apresentar uma área protegida do desafio erosivo, isto é, uma área hígida. O perfil traçado envolverá uma área hígida e outra que foi submetida aos testes experimentais. O degrau resultante ou desnivelamento entre elas corresponde ao desgaste em micrômetros produzidos pela erosão^{75,76,174,175}. A perfilometria permite quantificar a perda de massa após o desafio erosivo.

Em relação a estes dois métodos, parece que o tempo de duração do experimento pode interferir na análise. A perfilometria necessita de um determinado desgaste (μm) para que a perda de massa seja detectada pelo

aparelho, pois se o desgaste for muito pequeno, não há como medi-lo. Por outro lado, a microdureza necessita de uma área plana para realização da endentação, e um desafio erosivo muito prolongado pode alterar consideravelmente a superfície, de tal forma que inviabilize a realização da endentação. Desta forma, o modelo *in situ* deve ter uma duração suficiente que permita a aferição do desgaste e não desnivele o espécime para que possa ser avaliado no microdurômetro.

A rugosidade superficial é um aspecto relevante a qualquer material restaurador¹⁷¹. No caso do substrato dentário erodido, parece ser adequada a verificação das irregularidades presentes após o tratamento experimental. A lisura superficial reduz o acúmulo de biofilme dentário. WEITMAN; EAMES¹⁷³ demonstraram a relação entre rugosidade superficial e acúmulo de biofilme. Pela análise de diferentes substratos, constataram que com o tempo ocorre aumento da rugosidade favorecendo o acúmulo de placa. Segundo CARPINETTI³³, a rugosidade de uma superfície é basicamente quantificada por parâmetros relacionados à altura (amplitude) e largura (ou espaçamento) das irregularidades ou por uma combinação desses atributos. Por deslizamento de uma ponta apalpadora de diamante, as irregularidades de um determinado segmento do espécime são registradas, devendo ser representativas do restante da superfície analisada. Para cada segmento do espécime foram realizadas cinco leituras aleatórias, sendo o valor de rugosidade superficial obtido através da sua média aritmética.

A rugosidade superficial muitas vezes é investigada com o objetivo de verificar se o processo de acabamento e polimento foi realizado de forma adequada.

Uma série de elementos e parâmetros foi destacada por BATISTA²¹, a qual deve ser levada em consideração em relação a rugosidade superficial. Inicialmente, toda a linha da superfície submetida à medição sofre um processo de filtragem, a fim de se corrigirem as ondulações de grande magnitude apresentadas. O rugosímetro, aparelho que realiza tal leitura, efetua automaticamente tal correção, através de um programa nele incorporado.

O esquema apresentado na Figura 28, no qual pode-se observar que a letra A representa o perfil real numa linha da superfície, sem filtragem; a letra B representa as ondulações de grande magnitude, as quais serão eliminadas; e a letra C representa o perfil de rugosidade após a filtragem.

FIGURA 28- Ilustração esquemática do processo de filtragem automática realizada pelo Rugosímetro em qualquer tipo de superfície

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um outro método importante. Tem a função de avaliar a morfologia da lesão, não pode ser utilizado isoladamente sem o auxílio de um método quantitativo e, uma vez aplicado, inviabiliza o uso do bloco^{18,83}. O microscópio de força atômica não necessita de um preparo do bloco como no MEV, é extremamente exato e de natureza quantitativa. A desvantagem é que várias áreas devem ser copiadas para se obter um valor representativo da amostra¹⁸.

A microrradiografia é uma técnica em que um feixe de raios-X é incidido no esmalte e uma placa fotográfica é usada para gravar a penetração da radiação. O grau de escurecimento do filme ou a densidade do fóton somado à calibração da amostra dá uma visão da densidade mineral do esmalte. É o melhor método estabelecido para quantificar perda mineral tanto superficial quanto internamente, mas não permite avaliar a perda de estrutura dentária em altura (μm). Além disso, é tecnicamente muito trabalhoso e sujeito a variações do examinador. FEATHERSTONE et al.⁴⁸ mostraram certa similaridade entre a microrradiografia e a microdureza na avaliação do perfil mineral de lesões cariosas resultantes de um processo de des-remineralização.

Com base nestas informações as variáveis de análise escolhidas para estudo foram a microdureza superficial, rugosidade e perfilometria.

6.2.2.1 Considerações sobre o substrato dentário

Para os testes de microdureza superficial inicial, observou-se uma menor dureza para dentina quando comparada ao esmalte. Portanto, utilizou-se um valor de carga estática menor (25g) e tempo menor (5s) para avaliar a dureza Knoop em dentina.

No presente estudo, optou-se por realizar as endentações aleatoriamente, englobando toda a superfície polida do espécime. A realização das endentações aleatórias foi importante, porque a erosão não ocorre de forma homogênea. A medição de diferentes áreas possibilitou uma avaliação mais completa das alterações dos espécimes após desafio erosivo.

Nas condições experimentais estudadas, em relação à microdureza superficial, observou-se a maior perda em esmalte em ordem decrescente para: SB- Erosão, SB- 1 Min, SB- 30 Min, CB-1 Min, CB-Erosão, CB-30 Min. As três situações tiveram menor perda de dureza nos espécimes submetidos à ação do bochecho. As condições SB e CB para o sub-grupo 30 Min quando comparada às condições erosão e 1 Min, apresentaram menor alteração, reforçando achados de outros estudos em relação à ação remineralizante da saliva^{8,64,146} a qual foi, neste estudo, associada à ação do Fe.

Já para a dentina, a maior perda de microdureza superficial em ordem decrescente foi: SB-Erosão, CB-Erosão, CB-1 Min, SB-CB 30 Min e SB 1 Min.

Para as 3 condições de erosão testadas em esmalte, a maior perda de dureza superficial ocorreu no grupo SB e na condição erosão, tendo sido significativa ($p < 0,05$). A ausência de fatores protetores como uso de dentifrício fluoretado e de bochecho com FeSO_4 , pode ter aumentado a ação erosiva da bebida ácida.

Os resultados permitem afirmar que, independentemente do grupo e das condições experimentais, o esmalte apresentou maior perda de dureza quando comparado à dentina. Este fato pode ser justificado pelo fato de o esmalte ser o tecido mais mineralizado no organismo, com cerca de 95% de minerais⁵⁵. Estes minerais presentes na superfície do esmalte (cálcio, fosfato e flúor) podem se dissolver quando expostos a ácidos. Por outro lado, a presença de colágeno na dentina, poderia protegê-la da desmineralização ácida.

A análise da rugosidade superficial foi realizada quantificando-se a rugosidade inicial menos a final em μm , após o tratamento experimental. A rugosidade apresentou valores positivos e negativos, sendo que o aumento da rugosidade superficial final demonstrou a manutenção da camada subjacente da superfície dentária, após o desafio erosivo. O aumento na rugosidade superficial final no esmalte ocorreu em ordem crescente para os grupos CB- 1 Min, SB- 1 Min, SB- Erosão, CB- 30 Min, SB- 30 Min, CB – Erosão, após o procedimento experimental. O grupo CB na condição experimental erosão apresentou a maior rugosidade demonstrando que a

superfície erodida foi mantida embora com alto grau de rugosidade, e o grupo SB na condição experimental 1 Min apresentou a menor rugosidade demonstrando que a escovação logo após a ingestão de bebida ácida remove uma porção maior de tecido dentário, polindo sua superfície e reduzindo a rugosidade superficial.

A rugosidade apresentou diferença significativa entre as condições experimentais, independentemente da superfície dentária e dos grupos SB e CB. Na condição 30 Min houve diferença significativa na rugosidade superficial quando comparada às outras condições testadas. No grupo CB houve redução na rugosidade, o que poderia ser justificado pela precipitação de íons Fe na superfície dentária. Já no grupo SB houve aumento na rugosidade, o que pode ter sido causado pela ação protetora da saliva. AMAECHI; HIGHAM⁸ e HARA et al.⁶⁴ demonstraram a ação remineralizadora da saliva, após desafio erosivo.

Este estudo avaliou a redução da ação erosiva e do efeito sinérgico entre erosão e abrasão. Assim, a superfície que se apresentou com maior rugosidade final demonstrou que não foi totalmente removida pela escovação. Em relação à dentina, podem-se observar melhores condições de reendurecimento após o uso do bochecho com a solução de FeSO₄, na condição experimental 30 Min, já que a rugosidade final mostrou-se aumentada.

HUGHES et al.⁷⁶ afirmaram que a erosão causa desmineralização da camada sub-superficial de esmalte e, se associada à abrasão, fica mais susceptível a sua remoção. A associação entre ação da saliva e do bochecho permitiu uma maior manutenção da camada desmineralizada da dentina.

O método que avaliou o desgaste, relacionado à rugosidade superficial e a microdureza, complementou a análise da influência do bochecho com a solução de sulfato ferroso na superfície dentária.

O maior desgaste em esmalte ocorreu no grupo SB na condição experimental 1 Min, seguido por SB-30 Min e SB-Erosão. As menores perdas de massa ocorreram no grupo CB na condição experimental 30 Min, seguido por CB-1 Min e CB-Erosão. Já para a dentina, a maior perda de massa ocorreu em ordem decrescente: SB-Erosão; SB-1 Min; SB-30 Min; CB-1 Min; CB-Erosão; CB-30 Min. Tanto para E como D o grupo SB apresentou maior desgaste independente da condição testada quando comparado ao grupo CB e, a condição 30 Min teve a melhor situação em ambos os grupos.

HARA et al.⁶⁴ relataram que a ação da saliva, para minimizar o desgaste em dentina, provocado pela associação entre erosão e abrasão, parece não ser efetiva.

Neste estudo, quando foram comparados os grupos, os sub-grupos e as condições experimentais (Figura 27) para perda de massa, observou-se diferença significativa entre SB e CB e entre E e D. O bochecho com a solução de sulfato ferroso teve ação efetiva na redução da ação erosiva na

superfície dentária, independentemente da condição de erosão. A erosão e a erosão associada à abrasão foram minimizadas pela ação do bochecho, sendo significativa em dentina.

O uso do ferro na superfície do esmalte foi investigado por BACHRA; VAN HARKAMP¹⁷. Os autores relataram a formação de coberturas finas, ácido-resistentes, de hidróxidos de Fe sobre o esmalte. Além disto, tem-se sugerido um efeito do Fe na nucleação da formação da apatita, substituição do Ca na apatita e um aumento de sua concentração em lesões de cárie remineralizadas em esmalte e dentina. Isto permitiu extrapolar que haveria um aumento nos níveis de Fe encontrados no esmalte exposto topicamente ao Fe¹¹⁰.

O bochecho com a solução de sulfato ferroso influenciou na erosão/abrasão, em esmalte e em dentina, em relação à %PDS e em relação ao desgaste. Isto sugere que o Fe possa se incorporar ao esmalte, alterando a dureza superficial e reduzindo o desgaste, minimizando a remoção da camada desmineralizada. A análise de Fe incorporado nos fragmentos de esmalte e dentina do presente estudo poderia ajudar a esclarecer este mecanismo.

O esmalte apresentou maior perda de dureza e desgaste significativamente maior que a dentina, independente do grupo ou condição testada. As evidências demonstram que o esmalte, mais mineralizado que a dentina, sempre sofre mais ataque erosivo que esta⁵⁵. O colágeno protege a

dentina da desmineralização, possivelmente pelo fato de não se dissolver em ácido, haja vista que para degradá-lo seria necessário proteases.

6.2.2.2 Considerações sobre Métodos Preventivos

Diferentes estudos demonstraram que a erosão em dentina pode ser afetada por tratamentos mais eficazes do que esmalte por meio do uso de altas concentrações de agentes fluoretados tópicos^{53,177}.

Diferentes estudos, associando o flúor com os fenômenos erosão/abrasão, utilizaram como meios de aplicação de flúor géis e soluções. Resultados positivos foram obtidos por ATTIN; ZIRKEL; HELLWIG¹¹ que testaram *in vitro* se a aplicação de soluções fluoretadas aumentaria a resistência abrasiva de espécimes de dentina erodida (minimizando o desgaste), com ótimos resultados para a solução com 2000 ppm de fluoreto de sódio. LUSSI et al.¹⁰⁸ não obtiveram melhorias com o uso de solução fluoretada *in situ* na prevenção da abrasão em esmalte erodido. Isto pode ser justificado pela baixa concentração de flúor (250 ppm), pouco tempo de exposição (30 s) e diluição da saliva. BUCHALLA et al.²⁸ demonstraram bons resultados do gel fluoretado em comparação ao dentífrico fluoretado na erosão e erosão/abrasão.

LUSSI; JAEGGI; ZERO¹⁰⁷ defendem a hipótese que o flúor do dentífrico parece não ter influência na erosão/abrasão, no esmalte, em relação à % PDS, mas têm influência no desgaste, ou seja, sua principal

ação seria imediata. Os autores justificaram que ele não é incorporado ao esmalte e por essa razão não altera a dureza superficial, mas se deposita externamente a cada escovação, possivelmente na forma de CaF_2 , sendo esta camada removida na próxima escovação, minimizando a remoção da camada de esmalte desmineralizada (desgaste).

O desgaste aumenta quanto mais rápida é feita a escovação. A postergação da escovação, após exposição dentária a alimentos ou bebidas ácidas, parece ser uma orientação para indivíduos que não apresentem risco à cárie.

Tem-se relatado na literatura científica a formação de coberturas finas, ácido-resistentes, de hidróxidos de Fe sobre a superfície do esmalte¹⁶⁶. Além disto, tem-se sugerido um efeito do Fe na nucleação da formação da apatita, substituição do Ca na apatita e um aumento de sua concentração em lesões de cárie remineralizadas em esmalte e dentina. MARTINHON¹¹⁰ descreveu que haveria um aumento nos níveis de Fe encontrados no esmalte exposto topicamente ao Fe. O papel do Fe na remineralização do esmalte humano foi relatado em vários trabalhos, nos quais seu efeito foi sugerido na nucleação da formação de apatita, substituição do Fe nos cristais de hidroxiapatita, substituição do Ca na apatita, aumento de sua concentração em lesões de cárie remineralizadas em esmalte e dentina. Seu efeito também foi relatado, *in vitro*, na inibição da desmineralização¹⁷². O sulfato ferroso foi capaz de reduzir a desmineralização de blocos de esmalte¹¹⁰.

Assim, o bochecho, com a solução de sulfato ferroso, foi utilizado neste estudo como método preventivo na redução da erosão e do efeito sinérgico entre erosão e abrasão, após ação de bebida ácida.

Na análise de variância a dois critérios, o bochecho com solução de sulfato ferroso reduziu o desgaste independentemente das condições de erosão, embora não tenha sido significativo. Por outro lado, quando se aplicou a ANOVA a três critérios, comparando esmalte e dentina na presença ou ausência de bochecho, sob as três condições de erosão, foi observada uma diferença significativa entre os grupos CB e SB mostrando a importância do uso do bochecho com a solução de sulfato ferroso.

6.2.2.3 Prevenção e Controle do uso do FeSO_4

YIP¹⁸¹ propôs o uso de suplementos de ferro associados à sacarose para reduzir a deficiência de ferro causada pela anemia. Deste modo, seria possível minimizar tanto a erosão dentária como a anemia com o uso do sulfato ferroso, embora o mecanismo exato de ação do Fe na inibição da desmineralização dentária não tenha sido definitivamente determinado.

O sulfato ferroso é encontrado em farmácias do SUS, em solução oral (gotas 250mg Fe/ 5mL), em frasco com 60 mL. A concentração usada neste estudo foi de 10 mmol/L, sendo que a disponível no SUS é de 16 mmol/L, o que permite afirmar que esta concentração poderia ser diluída em

1:1 em água e utilizada pela população sem um custo adicional, melhorando os fatores relacionados à anemia.

Pacientes que sofrem de refluxo gástrico, bulimia nervosa e especialmente anorexia nervosa apresentam algum grau de anemia. Portanto, o bochecho, com a solução de sulfato ferroso, poderia ser utilizado para prevenção de erosão dentária ou erosão associada à abrasão, e ser ingerido reduzindo a deficiência alimentar nesses pacientes.

Normalmente são as crianças menores, as mais atingidas pela anemia. Esta população dificilmente apresenta como maior problema dentário a erosão. Para o grupo de adolescentes mais propensos à erosão, haveria a possibilidade do uso do bochecho. Outra forma de se empregar o FeSO_4 seria por meio de sua incorporação aos produtos ácidos, o que não dependeria da cooperação dos indivíduos.

A modificação na formulação dos produtos seria uma opção para a prevenção da erosão dentária. Entretanto, medidas devem ser estudadas para se reduzir as possíveis alterações no sabor dos alimentos ou bebidas.

Alguns fatores necessitam de maiores investigações, como o que foi observado em relação ao manchamento da superfície interproximal dos voluntários do gênero feminino, após o uso do bochecho com a solução de FeSO_4 , embora o manchamento seja extrínseco, e tenha sido removido por meio da escovação, entre 5 a 14 dias. Este achado merece estudos futuros

para que se possam fazer maiores inferências quanto a este fator, especialmente no que diz respeito ao emprego de concentrações menores do composto.

Os achados deste estudo *in situ* sugerem que o bochecho com a solução de sulfato ferroso tem um bom potencial para ser usado na inibição do efeito sinérgico entre erosão e abrasão, bem como na redução da erosão dentária. Sendo este um trabalho pioneiro a este respeito, são necessários estudos adicionais para refinar estes achados e estabelecer a dose ideal a ser empregada, minimizando os efeitos colaterais, dentre os quais destacam-se o sabor desagradável e a possibilidade de manchamento dentário.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
Baurão

7

Conclusões

7 Conclusões

Após a análise dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que:

- O refrigerante de maior potencial erosivo foi o Sprite Diet®, mas não houve diferença significativa quando comparado com a Coca-cola®.
- Houve diferença na perda de dureza, rugosidade superficial e desgaste da superfície dentária, resultante das três condições de erosão testadas.
- Para o esmalte, o bochecho com a solução de sulfato ferroso foi capaz de reduzir significativamente a perda de dureza, mas não a rugosidade e nem o desgaste.
- Para a dentina, o bochecho com a solução de sulfato ferroso foi capaz de reduzir significativamente o desgaste, mas não a rugosidade e nem a perda de dureza.
- O esmalte apresentou perda de dureza e desgaste significativamente maiores que a dentina, independentemente dos tratamentos erosivos ou preventivos adotados.
- O bochecho com a solução de sulfato ferroso foi capaz de minimizar a erosão dentária, após o uso do refrigerante, e reduzir o efeito sinérgico entre erosão e abrasão, tanto em esmalte como em dentina.

Estas conclusões permitem a rejeição de todas as hipóteses nulas formuladas.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
Baurão

Anexos

Anexo 1

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa

Processo nº 29/2004

Bauru, 05 de abril de 2004.

Senhora Professora,

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado **“Avaliação in situ da ação de diferentes bochechos após a ingestão de bebidas ácidas na superfície dentária”**, de autoria de Profª Silvia Helena de Carvalho Sales Peres, que será desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação.

Na reunião de 31 de março de 2004 o parecer do relator, **aprovando o projeto**, foi aceito pelo Comitê, considerando que não existem infrações éticas pendentes.

Informamos que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para publicação do trabalho.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Arsenio Sales Peres
Vice-Coordenador

Ilmª Srª Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf
DD. Docente do Departamento de Ciências Biológicas (Bioquímica)

Sílvia Helena de Carvalho Sales-Peres

Anexo 2

Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (3235-8356)

Processo nº 29/2004

Bauru, 08 de junho de 2005.

Senhora Professora,

Informamos que após análise por este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, a alteração do título do projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação in situ da ação de diferentes bochechos após a ingestão de bebidas ácidas na superfície dentária**” de autoria da Profª Silvia Helena de Carvalho Sales Peres, desenvolvido sob sua orientação, para “**Avaliação in situ da ação do bochecho de sulfato ferroso na superfície dentária, após a ação de um refrigerante, pra reduzir o efeito sinérgico entre erosão e abrasão**” foi **aprovado** considerando que não houve alteração em sua metodologia.

Lembramos que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para a publicação do trabalho.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Henrique Rubo
Coordenador

Ilmª Srª Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf
DD. Docente do Departamento de Ciências Biológicas

Silvia Helena de Carvalho Sales-Peres

Anexo 3

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DEPARTAMENTO DE ODONTOPEDIATRIA, ORTODONTIA E SAÚDE COLETIVA

CARTA DE INFORMAÇÃO AO VOLUNTÁRIO

Existem muitas dúvidas sobre o efeito erosivo causado por refrigerantes a base de cola associada ou não à escovação (abrasão) na superfície dentária. Para o esclarecimento dessas dúvidas, estudos "in situ" têm sido preconizados em detrimento a estudos "in vitro", pois simulam justamente as condições bucais e os riscos envolvidos podem ser controlados, já que a dose de bebida ingerida é mínima (10mL) e o período experimental é curto. Face à necessidade de pesquisas com a finalidade de elucidar alguns aspectos envolvidos na erosão, o objetivo deste estudo será avaliar o efeito da coca-cola sobre blocos de dente humano associado ou não à escovação (fator de abrasão) e ao uso de uma solução de bochecho de sulfato ferroso. Para tal, será necessária a sua colaboração espontânea na utilização de um aparelho contendo blocos de esmalte e de dentina previamente desinfetados com solução de formol 2%, durante um período pré-determinado, seguindo um protocolo detalhado no documento "Instruções ao voluntário". O voluntário deve estar ciente que o não cumprimento das instruções poderá prejudicar os resultados da pesquisa. Além disso, a qualquer momento o voluntário poderá requerer mais informações ou até mesmo negar-se a continuar participando da pesquisa, sem qualquer penalidade.

TERMO DE LIVRE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Pelo presente termo que atende às exigências legais e éticas, o SR. (a) _____, portador (a) da cédula de identidade RG nº _____, após leitura minuciosa da CARTA DE INFORMAÇÃO AO VOLUNTÁRIO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta.

Fica claro que o paciente ou seu representante legal pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica).

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Bauru, _____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Sílvia H. de C. S. Peres

Assinatura da autora

Sílvia Helena de Carvalho Sales-Peres

Anexo 4

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DEPARTAMENTO DE ODONTOPEDIATRIA, ORTODONTIA E SAÚDE COLETIVA

INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS

1. Todos os materiais utilizados não acarretaram em custo ao voluntário.
2. Durante o experimento, os voluntários deverão escovar seus dentes com o dentífrico fluoretado fornecido pela autora do trabalho.
3. A pesquisa será composta por 2 etapas, com duração de 5 dias cada uma e com intervalo de 7 dias entre as mesmas.
4. Os voluntários deverão utilizar um aparelho e só o removerão para as principais refeições (café da manhã, almoço e jantar), ocasião em que o dispositivo ficará envolvido em gaze encharcada por água de abastecimento. Em seguida realizarão a higiene bucal e esperarão ao redor de 5 minutos para recolocar o aparelho.
5. Durante o uso do aparelho, nenhum tipo de alimento ou bebida poderá ser ingerido, exceto água.
6. Evitar que o dispositivo fique fora da boca por um período prolongado, restringindo-se ao tempo necessário para a refeição (máximo de 1 hora).
7. Realize sua higiene bucal normalmente, utilizando dentífrico habitual, após as refeições, sem o aparelho.
8. Os voluntários deverão imergir em 150 mL da bebida (Coca-cola), fornecida pela autora, durante 5 minutos, nos horários pré-determinados (10:00, 13:00, 16:00 e 19:00 h). Caso não consigam seguir estritamente os horários, os voluntários deverão ter em mente que a imersão na bebida só poderá ser efetuada 5 minutos após as refeições e, que após a imersão, o aparelho deverá permanecer na boca pelo menos por 3 horas, para depois se executar uma nova imersão.
9. Após a imersão do aparelho na bebida, por 5 minutos, dar um gole no refrigerante antes de recolocar o aparelho na boca.
10. Deverão realizar o bochecho com a solução de sulfato ferroso por 1 min, ou aguardar por 1 min com o aparelho na boca, dependendo da fase que estiver.
11. Em seguida vão escovar a segunda a fileira horizontal, que estará indicada por 1 Min, na qual há 4 blocos, com 10 movimentos de vai-vem, com dentífrico fluoretado (Crest), sem exercer pressão. Em seguida o aparelho será recolocado na boca, após 30 minutos de permanência na boca, o aparelho será retirado e o voluntário deverá escovar a fileira indicada com 30 Min, procedendo também 10 movimentos. Esta informação será reforçada na época do experimento.
12. Para realizar a escovação, os voluntários deverão certificar qual fileira deve ser escovada (1 min e 30 min). Para haver uma padronização da amostra, os voluntários serão treinados em relação à escovação sem força, utilizando uma porção de dentífrico correspondente a uma sujeira em toda extensão das cerdas e realizando 10 movimentos de vaivém, sem exercer pressão.
13. Uma vez ao dia, antes de dormir, os voluntários deverão realizar a desinfecção do aparelho, utilizando clorexidina a 0,2%, por 2 minutos, sempre respeitando às 2 horas de permanência na boca após a escovação da condição experimental 30 min.
14. O bochecho deverá ser realizado após e imersão na bebida e recolocação na boca, de forma vigorosa durante 1 minuto.
15. Os voluntários deverão trazer o aparelho assim que termine o período experimental, para a troca dos blocos e limpeza do aparelho.
16. Quando qualquer material estiver acabando, entrar em contato com a autora, para que este seja repostado.
17. Qualquer dúvida entrar em contato com a autora do trabalho, pelo telefone: 32358357 ou 32275517.

Obs: Favor verificar todos os dias se os blocos estão em suas lojas e se a proteção de esmalte, nas metades dos fragmentos permanecem intactas, caso sejam removidas entrar imediatamente em contato com a autora.

Anexo 5

Os resultados da análise do fluxo salivar estimulado e não estimulado, seus valores de pH utilizados para a seleção dos voluntários estão descritos na tabela abaixo.

TABELA 14 - Valores do fluxo salivar estimulado e não estimulado (mL/min) de cada voluntário

Voluntário	Fluxo não estimulado	Fluxo estimulado
1	1,60	2,51
2	0,43	1,75
3	0,52	2,20
4	1,06	2,33
5	1,04	1,64
6	0,98	2,65
7	0,75	1,10
8	0,36	1,10
9	0,68	2,10
10	0,75	1,00

Anexo 6

TABELA 15 – Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	%PDS	dP	%PDS	dP	%PDS	dP
1	-83,54	0,65	-68,39	6,72	-76,61	6,51
2	-82,12	1,63	-86,92	2,34	-74,58	0,40
3	-81,88	3,74	-80,62	8,33	-51,56	0,60
4	-78,07	2,13	-81,35	1,33	-73,39	3,83
5	-82,50	4,89	-75,69	12,84	-70,82	6,14
6	-88,19	1,04	-71,55	0,01	-72,28	0,35
7	-77,53	2,17	-72,98	0,99	-72,82	6,37
8	-80,35	4,72	-73,93	1,54	-73,62	2,71
9	-77,60	4,52	-66,85	3,55	-64,38	1,47
10	-76,21	4,26	-82,21	1,80	-77,83	2,13

Anexo 7

FIGURA 29- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Anexo 8

TABELA 16– Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, após ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	%PDS	dP	%PDS	dP	%PDS	dP
1	-73,51	1,66	-76,27	7,43	-80,09	5,64
2	-56,72	15,25	-62,01	9,79	-67,19	3,65
3	-70,35	6,12	-73,00	2,97	-70,78	2,72
4	-61,19	4,50	-64,91	4,12	-49,12	10,47
5	-84,62	4,28	-77,15	7,90	-74,45	3,84
6	-68,34	8,20	-64,23	2,50	-67,23	3,00
7	-65,78	0,39	-75,92	1,30	-75,07	8,52
8	-69,49	1,93	-77,47	1,23	-69,93	1,69
9	-68,38	3,67	-62,39	5,25	-63,39	3,48
10	-65,30	3,40	-65,68	2,34	-65,88	1,19

Anexo 9

FIGURA 30 - Perda média de microdureza superficial nos espécimes de esmalte, após ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Anexo 10

TABELA 17- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	%PDS	dP	%PDS	dP	%PDS	dP
1	-37,68	17,58	-19,41	9,08	-36,01	13,26
2	-53,83	14,01	-43,69	23,71	-29,95	24,14
3	-41,58	3,18	-25,95	7,60	-45,37	7,41
4	-57,69	2,07	-34,25	21,10	-29,83	11,98
5	-47,98	17,86	-57,48	11,61	-58,72	7,77
6	-45,50	41,30	-19,32	10,28	-24,01	7,55
7	-54,98	15,49	-36,37	31,78	-44,39	4,13
8	-10,08	5,10	-31,53	14,30	-59,88	0,33
9	-51,99	5,89	-36,91	22,60	-39,41	2,67
10	-59,57	11,67	-45,73	2,34	-35,34	13,09

Anexo 11

FIGURA 31- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4

Anexo 12

TABELA 18- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, após a ação do bochecho com solução de FeSO_4

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	%PDS	dP	%PDS	dP	%PDS	dP
1	18,82	15,15	19,15	15,97	33,71	34,29
2	57,43	7,77	24,73	8,72	49,73	2,47
3	16,02	9,81	39,13	7,52	25,67	13,84
4	62,36	5,33	56,17	4,07	48,44	6,46
5	65,43	9,04	57,07	10,07	37,82	31,61
6	25,49	44,16	59,37	1,72	51,25	3,04
7	39,34	18,52	33,92	38,22	21,08	12,17
8	48,54	3,93	39,94	22,93	38,22	7,39
9	44,48	9,40	42,35	2,12	55,39	3,69
10	38,64	37,56	39,95	0,48	39,29	15,22

Anexo 13

FIGURA 32- Perda média de microdureza superficial nos espécimes de dentina, após a ação do bochecho com solução de FeSO_4

Anexo 14

TABELA 19- Análise Variância a 2 critérios para % de perda de dureza superficial em esmalte: 1- Grupo (SB e CB); 2-123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)

Efeito	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	738,73	18	80,15	9,21	0,007*
2	2	132,09	36	30,77	4,29	0,021*
12	2	126,79	36	30,77	4,11	0.024*

GL= Graus de liberdade; QM= Quadrado médio

Anexo 15

TABELA 20- Análise de variância a 2 critérios para % de perda de dureza superficial em dentina: 1-Grupo (SB e CB); 2-123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)

	GL	QM	GL	QM erro	F	p
			erro			
1	1	3,51	18	260,04	0,01	0,909
2	2	169,72	36	147,06	1,15	0,327
12	2	140,79	36	147,06	0,96	0,393

TABELA 21- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator erosão

Grupo	%PDS
SB	-80,799 ^a
CB	-68,367 ^b

O grupo sem bochecho apresentou maior % de perda de dureza para erosão.

Anexo 16

TABELA 22 - Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator erosão/abrasão 1 Min

Grupo	%PDS
SB	-76,048 ^a
CB	-69,902 ^a

TABELA 23 - Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente da porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte considerando o fator erosão/abrasão 30 Min

Grupo	%PDS
SB	-70,789 ^a
CB	-68,314 ^a

Para o fator 1 Min e 30 Min o grupo com ou sem bochecho não foi
significante.

Anexo 17

TABELA 24- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente da
porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte
considerando o fator sem bochecho

Condições Experimentais	%PDS
Erosão	-80,799 ^a
1 Min	-76,048 ^{ab}
30 Min	-70,789 ^b

TABELA 25- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente da
porcentagem de perda de dureza superficial do esmalte
considerando o fator com bochecho

Condições Experimentais	%PDS
Erosão	-68,367 ^a
1 Min	-69,902 ^a
30 Min	-68,314 ^a

Anexo 18

TABELA 26- Análise de variância a 2 critérios para rugosidade superficial em esmalte: 1-Grupo (SB e CB); 2-123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)

Efeito	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	0,01	18	0,12	0,05	0.827
2	2	0,22	36	0,08	2,53	0,093
12	2	0,03	36	0,08	0,38	0,686

TABELA 27- Análise de Variância a 2 critérios para rugosidade superficial em dentina: 1-Grupo (SB e CB); 2- 123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)

Efeito	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	0,09	18	0,12	0,75	0,399
2	2	0,20	36	0,04	4,47	0,018*
12	2	0,16	36	0,04	3,60	0,037*

Anexo 19

TABELA 28- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator erosão

Grupo	média
SB	0,051 ^a
CB	-0,043 ^a

TABELA 29- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator erosão e abrasão após 1 minutos

Grupo	média
SB	-0,011 ^a
CB	0,044 ^a

Anexo 20

TABELA 30- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator erosão e abrasão após 30 minutos

Grupo	média
SB	-0,298 ^a
CB	-0,031 ^b

TABELA 31- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator sem bochecho

SB	média
Erosão	0,051 ^a
1 Min	-0,011 ^a
30 Min	-0,298 ^b

Anexo 21

TABELA 32- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de rugosidade superficial da dentina considerando o fator com bochecho

CB	média
Erosão	-0,043 ^a
1 Min	0,044 ^a
30 Min	-0,031 ^a

Anexo 22

TABELA 33– Desgaste (μm) dos espécimes de esmalte, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	média	dP	média	dP	média	dP
1	25,44	1,07	15,40	5,44	21,05	3,09
2	9,81	2,45	4,31	1,33	5,02	1,36
3	5,41	3,71	10,44	3,04	7,41	4,70
4	5,55	2,98	14,63	1,07	6,95	3,27
5	4,96	0,97	13,36	4,82	12,82	4,05
6	4,96	2,60	14,91	2,74	12,98	0,42
7	8,63	2,60	7,48	2,74	10,62	0,42
8	6,80	2,31	10,04	1,31	10,04	8,54
9	10,99	4,41	11,23	3,36	6,58	1,60

10	10,43	0,98	5,16	2,30	9,32	2,88
-----------	-------	------	------	------	------	------

Anexo 23

TABELA 34– Desgaste (μm) dos espécimes de esmalte, com ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	média	dP	média	dP	média	dP
1	10,93	4,76	4,47	1,68	4,76	0,07
2	1,98	1,27	9,31	3,13	9,84	0,20
3	2,16	0,93	5,43	0,51	1,98	2,31
4	11,58	0,57	7,79	7,93	10,90	7,28
5	6,15	0,70	5,71	0,16	2,16	1,46
6	11,92	6,01	12,83	5,66	8,36	6,89
7	11,84	0,18	5,97	5,30	6,42	0,99
8	6,41	2,05	5,13	6,80	5,72	0,88
9	10,10	3,17	5,41	1,71	6,64	0,32
10	12,35	6,43	9,29	5,74	11,15	5,69

Anexo 24

TABELA 35– Desgaste (μm) dos espécimes de dentina, sem ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	média	dP	média	dP	média	dP
1	18,93	2,12	7,44	6,99	9,10	9,33
2	2,97	2,23	1,13	0,03	4,98	8,56
3	8,43	5,19	8,53	3,14	7,18	8,56
4	4,32	2,67	4,60	1,58	5,64	0,99
5	4,26	0,03	11,76	4,36	9,09	11,03
6	9,56	7,88	5,99	3,28	4,66	1,00
7	2,93	1,08	3,78	0,23	6,69	3,50
8	5,37	1,36	11,84	0,43	3,70	1,73
9	14,00	10,68	4,63	4,48	5,20	2,88

10	9,60	5,42	7,80	5,24	5,06	2,42
-----------	------	------	------	------	------	------

Anexo 25

TABELA 36– Desgaste (μm) dos espécimes de dentina, com ação do bochecho com solução de FeSO_4 , por voluntário

Voluntário	Erosão		1 Min		30 Min	
	média	dP	média	dP	média	dP
1	8,75	0,97	9,78	8,06	4,92	2,83
2	2,25	0,55	6,33	4,73	4,81	2,47
3	3,36	0,92	6,48	3,43	1,74	1,07
4	8,80	10,32	7,34	8,70	4,48	5,13
5	6,26	2,81	4,52	4,91	2,26	2,60
6	5,20	5,56	6,75	7,43	1,53	0,05
7	4,65	3,44	5,71	6,26	4,68	0,18
8	4,27	3,91	2,44	2,53	5,92	5,75
9	6,20	0,47	4,85	4,86	1,90	0,15
10	1,46	0,23	2,57	3,21	1,81	0,53

Anexo 26

TABELA 37- Análise de variância a 2 critérios para desgaste em esmalte: 1- Grupo (SB e CB); 2- 123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)

GRUPO	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	100,56	18	33,40	3,01	0,099
2	2	0,95	36	10,64	0,09	0,915
12	2	12,86	36	10,64	1,21	0,310

TABELA 38- Análise de variância a 2 critérios para desgaste em dentina: 1- Grupo (SB e CB); 2- 123 (Erosão, 1 Min, 30 Min)

Grupos	GL	QM	GL erro	QM erro	F	p
1	1	75,14	18	12,94	5,81	0,027*
2	2	18,33	36	7,62	2,41	0,104
12	2	5,15	36	7,62	0,67	0,515

Houve diferença estatisticamente significante entre os grupos SB e CB, sendo que o CB perdeu menos massa.

Anexo 27

TABELA 39- Teste de Tukey ($p < 0,05$) com variável dependente de desgaste da dentina considerando os três fatores (Erosão, 1 Min, 30 Min)

Grupo	média
SB	6,974 ^a
CB	4,736 ^b

O grupo com bochecho apresentou menor perda de massa quando comparado ao sem bochecho, independente da condição experimental.

USP

FACULDADE
DE
DENTODONTOLÓGIA
DE
Baurópolis

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas★

1. ADDY, M. et al. Development of a method in situ to study toothpaste abrasion of dentine. Comparison of 2 products. **J Clin Periodontol**, v.29, n.10, p.896-900, Oct. 2002.
2. AKER, J. R. New composite resins: comparison of their resistance to toothbrush abrasion and characteristics of abraded surfaces. **J Amer Dent Assoc**, v.105, n.10, p.633-5, Oct. 1982.
3. AL-DLAIGAN, Y.H.; SHAW, L.; SMITH, A. Dental erosion in a group of British 14-year-old school children. Part II: influence of dietary intake. **Br Dent J**, v.190, n.5, p.258-61, Mar. 10, 2001.
4. AL-DLAIGAN, Y. H.; SHAW, L.; SMITH, A. Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part I: prevalence and influence of differing socioeconomic backgrounds. **Br Dent J**, v.190, n.3, p.145-9, Feb. 10, 2001.
5. AL-MALIK, M. I. et al. Investigation of an index to measure tooth wear in primary teeth. **J Dent**, v.29, n.2, p.103-7, Feb. 2001.
6. AMAECHI, B. T. et al. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. **J Dent Res**, v.78, n.12, p.1821-8, Dec. 1999.

* Normas recomendadas para uso no âmbito da Universidade de São Paulo, com base no documento "Referências Bibliográficas: exemplos", emanado do Conselho Supervisor do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, em reunião de 20 de setembro de 1990.

7. AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W. M. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. **J Oral Rehabil**, v.26, n.8, p.624-30, 1999.
8. AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. **Arch Oral Biol**, v.46, n.8, p.697-703, Aug. 2001.
9. AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. **J Dent**, v.33, n.3, p.243-52, Mar. 2005.
10. ASHER, C.; READ, M. J. F. Early enamel erosion in children associated with the excessive consumption of citric acid. **Brit Dent J**, v.162, n.10, p.384-7, May 1987.
11. ATTIN, T.; ZIRKEL, C.; HELLWIG, E. Brushing abrasion of eroded dentin after application of sodium fluoride solutions. **Caries Res**, v.32, n.5, p.344-50, 1998.
12. ATTIN, T.; DEIFUSS, H.; HELLWIG, E. Influence of acidified fluoride gel on abrasion resistance of eroded enamel. **Caries Res**, v.33, n.2, p.135-9, 1999.
13. ATTIN, T. et al. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. **Caries Res**, v.34, n.1, p.48-52, Jan./ Feb. 2000.

14. ATTIN, T. et al. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. **Caries Res**, v.35, n.3, p.216-22, May/June 2001.
15. ATTIN, T. et al. Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. **Arch Oral Biol**, v.48, n.11, p.753-9, Nov., 2003.
16. ATTIN, T. et al. Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: An in situ study. **Caries Res**, v.38, n. 1, p.62-6, 2004.
17. BACHRA, B. N.; VAN HARSKAMP, G. A. The effect of polyvalent ions on the stability of a buffer system for calcification in vitro. **Calcif Tissue Res**, v.4, n.4, p.358-65, 1970.
18. BARBOUR, M. E.; REES, J. S. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **J Dent**, v.32, n.8, p.591-602, Nov. 2004.
19. BARTLETT, D. W.; SMITH, B. G.; WILSON, R. F. Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on teeth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hard-ness of enamel. **Brit Dent J**, v.176, p.346-8, 1994.
20. BARTLETT, D. W. et al. The prevalence of tooth wear in a cluster sample of adolescent schoolchildren and its relationship with potential explanatory factors. **Brit Dent J**, v. 184, n.3, p.125-9, Fev. 1998.

21. BATISTA, W. V. B. **Avaliação da eficiência do polimento efetuado em superfícies de vidro e de amálgama, por pontas de “borracha abrasiva” ou pastas para polimento, em relação à perda de massa e à rugosidade.** Bauru, 2003. 122p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
22. BENOWITZ, N. L. Clinical pharmacology of caffeine. **Ann Rev Pharmacol**, v.41, p.277-88, 1990.
23. BRACKETT, W. W. The etiology and treatment of cervical erosion. **J Tenn Dent Assoc**, v.72, n.3, p.14-8, 1994./Review/
24. BREKHMEN, I. I. **Man and biologically Active Substances:** the effects of drugs, diet and pollution on health. New York, Pergamon Press, 1980.
25. BROOKES, S. J. et al. Copper ions inhibit the demineralization of human enamel. **Arch Oral Biol**, v.48, p.25-30, 2003.
26. BROOKES, S. J. et al. Inhibitory effect of metal ions on acid demineralization. **Caries Res**, v.38, p.401, June-July 2004. /51st Annual ORCA Congress/
27. BRUNTON, P. A.; HUSSAIN, A. The erosive effect of herbal tea on dental enamel. **J Dent**, v.29, n.8, p.517-20, Nov. 2001.

28. BUCHALA, W. et al. Fluoride is able to reduce and erosive/abrasive enamel loss under severe erosive conditions. **Caries Res**, v.38, n.4, p.291-6, July/Aug. 2004
29. BUNDY, K. J.; BUTLER, M. F.; HOCHMAN, R. F. An investigation of the bacteriostatic properties of pure metals. **J Biomed Mater Res**, v.14, n.5, p.653-63, Sept. 1980.
30. BURATO, E. M. et al. Avaliação do potencial erosivo aos tecidos duros dentais de bebidas esportivas nacionais. **Rev ABO Nac**, v.10, n.2, p.109-12, abr./maio 2002.
31. CAMPOS, A. R. et al. Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) offers protection against gastric lesions induced by ethanol and indomethacin in rats. **Phytother Res**, v.17, n.10, p.1199-202, Dec. 2003.
32. CARLSON, M.; THOMPSON, R. D. Liquid chromatographic determination of methylxanthines and catechins in herbal preparations containing guarana. **J AOAC Int**, v.81, n.4, p.691-701, July/Aug. 1998.
33. CARPINETTI, L. C. R. **Rugosidade superficial**: conceitos e princípios de medição. São Carlos, Seção de Publicações da EESC-USP, 1996.
34. CURY, J. A.; REBELLO, M. A. B.; DEL BEL CURY, A. A. In situ relationship between sucrose exposure and composition of dental plaque. **Caries Res**, v.31, n.5, p.356-60, 1997.

35. DAVIS, W. B.; WINTER, P. J. The effect of abrasion on enamel and dentine after exposure to dietary acid. **Brit Dent J**, v.148, p.253-7, 1980.
36. DAWES, C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. **J Dent Res**, v.66, p.648-53, Feb. 1987.
37. DAWES, C.; MACPHERSON, L. M. Effects of nine different chewing-gums and lozenges on salivary flow rate and pH. **Caries Res**, v.26, n.3, p.176-82, 1992.
38. DEERY, C. et al. The prevalence of dental erosion in a United States and a United Kingdom sample of adolescents. **Pediatr Dent**, v.22, n.6, p.505-10, Nov./Dec. 2000.
39. DEVULAPALLE, K. S.; MOOSER, G. Glucosyltransferase inactivation reduces dental caries. **J Dent Res**, v.80, n.2, p.466-9, 2001.
40. DONACHIE, M. A.; WALLS, A. W. The tooth wear index: a flawed epidemiological tool in an ageing population group. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.24, n.2, p.152-8, Apr. 1996./Review/
41. DRIESSENS, F. C. M. et al. Microradiography and electron microprobe analysis of some natural white and brown spot enamel lesions with and without laminations. **Caries Res**, v.20, n.5, p.398-405, 1986.

42. DUARTE, J. M.; COELHO, L. G. C.; LESSA, N. D. D. A. Avaliação in vitro da eficácia do flúor adicionado em refrigerantes na prevenção da desmineralização do esmalte do dente. **Rev ABO Nac**, v.7, n.5, p.307-13, out./nov. 1999.
43. DUFFUS, J. H. "Heavy Metals"- a meaningless term. **Chemistry International** v.23, n.6, p.163-7, 2001.
44. DUNNING, J. C.; MARQUIS, R. E. Anaerobic killing of oral streptococci by reduced transition metal cations. **Appl Environ Microbiol**, v.64,n.1, p.27-33, Jan. 1998.
45. EDWARDS, M. et al. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. **J Oral Rehabil**, v.26, n.12, p.923-7, Dec. 1999.
46. EISENBURGER, M. et al. Ultrasonication as a method to study enamel demineralization during acid erosion. **Caries Res**, v.34, n.4, p.289-94, July/Aug. 2000.
47. ERIKSON, H. T.; CORREA, M.P.F.; ESCOBAR, J. R. Guarana (Paullinia cupana) as a commercial crop in Brazil in the Amazon region. **Econ Botany**, v.38, p.273-86, 1984.
48. FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res**, v. 17, n.5, p.385-91, 1983.

49. FISKE, C. H.; SUBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **J Biol Chem**, v.66, p.375-400, 1925.
50. FUSHIDA, C. E.; CURY, J. A. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de coca-cola na erosão de esmalte-dentina e reversão pela saliva. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v.31, n.2, p.127-34, abr./jun. 1999.
51. GALDUROZ, J. C.; CARLINI, E. D. E. A. Acute effects of the Paulinia cupana, "Guarana" on the cognition of normal volunteers. **São Paulo Med J**, v.112, n.3, p.607-11, July/Sep. 1994.
52. GANSS, C.; KLIMEK, J.; SCHWARZ, N. A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. **Arch Oral Biol**, v.45, n.10, p.897-902, 2000.
53. GANSS, C. et al. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. **Caries Res**, v.35, n.5, p.325-30, Sept./Oct. 2001.
54. GANSS, C. et al. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. **Caries Res**, v.38, n.6, p.561-6, Nov./Dec. 2004.
55. GARANT, P. R. **Oral cells and tissues**. London, Quintessence, 2003. p.25-80.

56. GEDALIA, I. et al. Enamel softening with Coca-Cola® and rethreading with milk or saliva. **Am J Dent**, v.4, n.3, p.120-2, June 1991.
57. GRANDO, L. J. et al. Erosão dental: estudo in vitro da erosão causada por refrigerantes e suco de limão no esmalte de dentes decíduos humanos- análises bioquímicas. **Rev Odontop**, v.4, n.1, p.1-10, 1995.
58. GRANDO, L. J. et al. In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth, analyzed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. **Caries Res**, v.30, n.5, p.373-8, 1996.
59. GRENBY, T. H. Methods of assessing erosion and erosive potential. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.2, p.207-14, 1996.
60. HACHIYA, Y. et al. Relation of finish to discoloration of composite resins. **J Prosthet Dent**, v.52, n.6, p.811-4, Dec. 1984.
61. HALL, A. F. et al. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. **J Dent**, v.27, n.5, p.333-9, July 1999.
62. HANNING, M.; BALTZ, M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. **Caries Res**, v.33, n.5, p.372-9, Sept./Oct. 1999.
63. HANNING, M.; BALTZ, M. Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. **Caries Res**, v.35, n.2, p.142-8, Mar./Apr. 2001.

64. HARA, A. T. et al. Abrasive wear on eroded root dentine alter different periods of exposure to saliva in situ. **Europ J Oral Sci**, v.111, n.5, p.423-7, Oct. 2003.
65. HARA, A. T. et al. Protective effect of the acquired enamel pellicle against different erosive challenges in situ. **Caries Res**, v. 38, p.357-412, 2004./Abstract/
66. HARDING, M. A. et al. Dental erosion in 5-year-old Irish school children and associated factors: a pilot study. **Community Dent Health**, v.20, n.3, p.165-70, Sep. 2003.
67. HAYES, K. F.; TRAINA, S. J. Metal speciation and its significance in ecosystem health. In: HUANG, P. M. **Soil chemistry and ecosystem health**. Soil Science Society of America, Madison, p.45-84, 1998. /SSSA- Special Publication, n.52/
68. HEAD, J. Enamel softening and rehardening as a factor in erosion. **Dental Cosmos**, v.52, p.46-8, 1910.
69. HENMAN, A. R. Guarana (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*): ecological and social perspectives on an economic plant of the central Amazon basin. **J Ethnopharmacol**, v.6, n.3, p.311-38, Nov. 1982.

70. HINDS, K.; GREGORY, J. R. National diet and nutrition survey 1994: children aged 1 1/2-4 1/2 years. vol 2: report of the dental survey. Office of population censuses and surveys. Her Majesty`s Stationery Office, London, 1995. In: AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S. M. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. **J Dent**, v.33, n.3, p.243-52, Mar. 2005.
71. HOLLOWAY, P. J.; MELLANBY, M.; STEWART, R. J. C. Fruit drinks and tooth erosion. **Brit Dent J**, v.104, p.305-309, 1958.
72. HONÓRIO, H. M. et al. Efeito erosivo in situ de um refrigerante, associado ou não à escovação mediata e imediata em dentes humanos e bovinos. **Brazil Oral Res**, v. 18, p.167, set. 2004./Special Issue/
73. HUGHES, J. A. et al. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ 1: comparison with orange juice. **J Dent**, v.27, n.4, p.285-90, May 1999.
74. HUGHES, J. A. et al. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 3: final drink and concentrate, formulae comparisons in situ and overview of the concept. **J Dent**, v.27, n. 5, p.345-50, July 1999.
75. HUGHES, J. A. et al. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. **J Dent**, v.28, n.2, p.147-52, Feb. 2000.

76. HUGHES, J. A. et al. Further modification to soft drinks to minimize erosion. **Caries Res**, v.36, n.1, p.70-4, Jan./Feb. 2002.
77. HUNTER, M. L. et al. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue I the oral environment. **J Dent**, v.28, n.4, p.257-63, May 2000.
78. HUNTER, M. L. et al. Development of low erosive carbonated fruit drinks 1: evaluation of two experimental orange drinks *in vitro* and *in situ*. **J Dent**, v.31, n.4, p.253-60, May 2003.
79. IMFELD T. Nutrition and dental caries. Non-cariogenic between-meal snacks and sweets: a marketplace for small and average-size businesses in the food industry. **Swiss Dent**, v.4, n.9, p.6-10, Sept. 1983.
80. IMFELD, T. Dental erosion. Definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.2, p.151-5, 1996.
81. JAEGGI, T., LUSSI, A. Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. **Caries Res**, v.33, n.6, p.455-61, Nov./Dec. 1999.
82. JÄRVINEN, V. K.; RYTÖMAA, I. .I; HEINONEN, O. P. Risk factors in dental erosion. **J Dent Res**, v.70, n.6, p.742-7, June 1991.
83. JOHANSSON, A. K. et al. Dental erosion in deciduous teeth: an in vivo and in vitro study. **J Dent Res**, v.29, n.5, p.333-40, July 2001.

84. JOHANSSON, A. K.; LINGSTRÖM, P.; BIRKHED, D. Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. **Eur J Oral Sci**, v.110, p.204-11, 2002.
85. JONES, S. G.; NUNN, J. H. The dental health of 3-year-old children in east Cumbria 1993. **Community Dent Health**, v.12, n.3, p.161-6, Sept. 1995.
86. JONES, L. et al. Studies on dental erosion: An in vivo-in vitro model of endogenous dental erosion-its application to testing protection by fluoride gel application. **Aust Dent J**, v.47, p.304-8, 2002.
87. KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3 rd. ed. Boca Raton, CRC Press, 2001. 413p.
88. KAKIUCHI, N. et al. Studies on dental caries prevention by traditional medicines. VIII. Inhibitory effect of various tannins on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. **Chem Pharm Bull (Tokyo)**, v.34, n.2, p.720-5, Feb. 1986.
89. KELLY, M. P.; SMITH B. G. The effect of remineralizing solutions on tooth wear in vitro. **J Dent**, v.16, n.3, p.147-9, June 1988.
90. KIM, J. W. et al. In vivo rehardening of enamel eroded by a cola drink. **J Dent Child**, v.68, n.2, p.122-4, Mar./Apr. 2001.

91. KLIMEK, J.; HELLWIG, E.; AHRENS, G. Effect of plaque on fluoride stability in the enamel after amine fluoride application in the artificial mouth. **Dtsch Zahnarztl Z**, v.37, n.10, p.836-40, Oct. 1982.
92. KOO, H.; CURY, J. A. Avaliação in situ de um dentifrício contendo MFP/DCPD na incorporação de flúor e remineralização do esmalte humano. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v.13, n.3, p.245-9, jul./set. 1999.
93. KOULOURIDES, T.; PHANTUMVANIT, P.; MUNKSGAARD, E. C.; HOUSCH, T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. **J Oral Pathol**, v.3, n.4, 185-96, 1974.
94. LARSEN M. J.; VD-FEHR, F. R.; BIRKELAND, J. M. Effect of fluoride on the saturation of an acetate buffer with respect to hydroxyapatite. **Arch Oral Biol**, v.21, p.723-8, 1976.
95. LARSEN, M. J.; NYVAD, B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. **Caries Res**, v.33, n.1, p.81-7, 1999.
96. LARSEN, M. J. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. **Caries Res**, v.35, n.3, p.229-34, 2001.
97. LARSEN, M. J.; RICHARDS, A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. **Caries Res**, v.36, n.1, p.75-80, Jan./Feb. 2002.

98. LEINFELDER, K. F.; WILDER JUNIOR, A. D.; TEIXEIRA, L. C. Wear rates of posterior composite resins. **J Amer Dent Ass**, v.112, n.6, p.829-33, June 1986.
99. LENDENMANN, U.; GROGAN, J.; OPPENHEIM, F. G. Saliva and dental pellicle-a review. **Advanc Dent Res**, v.14, p.22-8, Dec. 2000.
100. LINNET, V.; SEOW, W. K. Dental erosion in children: a literature review. **Pediatr Dent**, v.23, n.1, p.37-43, 2001.
101. LOEB, H. et al. Tannin-rich carob pod for the treatment of acute-onset diarrhea. **J Pediatr Gastroent Nutri**, v.8, n.4, p.480-5, May 1989.
102. LUSSI, A. et al. Dental erosion in a population of Swiss adults. **Community Dent Oral Epidem**, v.19, n.5, p.286-90, Oct. 1991.
103. LUSSI, A; JAEGGI, L. T.; SCHARER, S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. **Caries Res**, v. 27, n.5, p.387-93, 1993.
104. LUSSI, A.; JAEGGI, L. T.; JAEGGI-SCHARER, S. Prediction of the erosive potential of some beverages. **Caries Res**, v.29, n.5, p.349-544, July 1995.
105. LUSSI, A. et al. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. **Eur J Oral Sci**, v.108, n.2, p.110-4, Apr. 2000.

106. LUSSI, A.; JAEGGI, L. T.; MEGERT, B. Effect of various fluoride regimes on toothbrush abrasion of softened enamel in situ. **Caries Res**, v.38, n.4, p.393, July/Aug. 2004.
107. LUSSI, A; JAEGGI, L. T.; ZERO, D. The role of diet in the etiology of dental erosion. **Caries Res**, v.38, p.34-44, 2004./Supplemnt 1/
108. LUSSI, A. et al. Effect of amine/sodium fluoride rising on toothbrush abrasion of softened enamel in situ. **Caries Res**, v.38, n.6, p.567-71, Nov./Dec. 2004.
109. MAIA, L. C.; MODESTO, A. Análise comparativa, ao microscópio eletrônico de varredura, de esmalte bovino exposto a diferentes soluções ácidas: um estudo in vitro. **Rev Fac Odontol USP**, v.10, n.3, p.161-8, jul./set. 1996.
110. MARTINHON, C. C. R. **Efeito do ferro na composição do esmalte bovino e na placa dentária formada in situ**. Bauru, 2004. 132p. Tese (Doutorado) Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
111. McBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils**. New York, Oxford University Press Inc., 1994. 406p.
112. MENAKER, L. **The biologic bases of dental caries**. v.18, p.386-415, 1980.
113. MEURMAN, J. H. et al. Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect. **Scand J Dent Res**, v.98, n.2, p.120-8, Apr. 1990.

114. MEURMAN, J. H. et al. Application of a new mechanical property microprobe to study hardness of eroded bovine enamel in vitro. **Scand J Dent Res**, v.98, n.6, p.368-70, Dec. 1990.
115. MEURMAN, J. H.; FRANK, R. M. Progression and surface ultra structure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. **Caries Res**, v.25, n.2, p.81-7, 1991.
116. MEURMAN, J. H.; TEN CATE, J. M. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.2, p.199-206, 1996.
117. MIGUEL, J. C.; BOWEN, W. H.; PEARSON, S. K. Effects of frequency of exposure to iron-sucrose on the incidence of dental caries in desalivated rats. **Caries Res**, v.31, n.3, p.238-43, 1997.
118. MIGUEL, J. C.; BOWEN, W. H.; PEARSON, S. K. Influence of iron alone or with fluoride on caries development in desalivated and intact rats. **Caries Res**, v.31, n.3, p.244-8, 1997.
119. MIGUEL, J. C.; BOWEN, W. H.; PEARSON, S. K. Effects of iron salts in sucrose on dental caries and plaque in rats. **Arch Oral Biol**, v.42, n.5, p.377-83, 1997.
120. MILLER, C. D. Enamel erosive properties of fruit and various beverages. **J Am Diet Assoc**, v.28, p.319-24, 1952.
121. MILLWARD, A. et al. The distribution and severity of tooth wear ant the relationship between erosion and dietary constituents in a group of children. **Int J Paed Dent**, v.4, n.3, p.151-7, Sept. 1994.

122. MILLWARD, A. et al. Continuous monitoring of salivary flow rate and pH at the surface of the dentition following consumption of acidic beverages. **Caries Res**, v.31, n.1, p.44-9, 1997.
123. MILOSEVIC, A.; YOUNG, P. J.; LENNON, M. A. The prevalence of tooth wear in 14-year-old school children in Liverpool. **Community Dent Health**, v.11, n.2, p.83-6, June 1994.
124. MOSS, S. J. Dental erosion. **Int Dent J**, v.48, n.6, p.529-39, Dec. 1998.
125. NEKRASHEVYCH, Y.; STÖSSER, L. Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. **Caries Res**, v.37, n.3, p.225-31, May/June 2003.
126. NEKRASHEVYCH, Y.; HANNING, M.; STÖSSER, L. Assessment of enamel erosion and protective effect of salivary pellicle by surface roughness analysis and scanning electron microscopy. **Oral Health Prev Dent**, v.2, n.1, p.5-11, 2004.
127. NIEUW AMERONGEN, A. V.; ODERKERK, C. H.; DRIESSEN, A. A. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. **Caries Res**, v.21, n.4, p.297-309, 1987.

128. NUNES, A. C. R. **Avaliação do efeito remineralizador da saliva artificial associada ou não a dentifrícios fluoretados, no processo de desmineralização provocado por ciclagem de pH, em esmalte humano**. Bauru, 2001. 144p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
129. NUNN, J. H. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.2, p.156-61, Apr. 1996.
130. NUNN, J. H. et al. Dental erosion- changing prevalence? A review of British National children's surveys. **Int J Paediatr Dent**, v.13, n.2, p.98-105, Mar. 2003.
131. O`BRIEN, M. Children's dental Health in the United Kingdom 1993. Office population census and surveys. Her Majesty's Stationary Office, London, 1994. In: AMAECHI BT, HIGHAM SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. **J Dent**, v.33, n.3, p.243-52, Mar. 2005.
132. OGinni, O.; OLUSILE, A. O. The prevalence, etiology and clinical appearance of tooth wear: the Nigerian experience. **Int dent J**, v.52, n.4, p.268-72, Aug., 2002.
133. OKASAKI, M.; TAKAHASHI, J.; KIMURA, H. Iron uptake of hydroxyapatite and fluoridated apatites. **J Dent Res**, v.64, p.301, 1985. Special issue. /Abstract n. 1141/

134. ONO, R. **Estudo in vitro da rugosidade superficial produzida pela escovação na superfície de resinas composta**. Piracicaba, 1997. 153p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
135. OPPERMANN, R. V.; ROLLA, G. Effect of some polyvalent cations on the acidogenicity of dental plaque in vivo. **Caries Res**, v.14, n.6, p.422-7, 1980.
136. O`SULLIVAN, E. A.; CURZON, M. E. J. Salivary factors offering dental erosion in children. **Caries Res**, v.34, n.1, p.82-7, Jan./Feb. 2000.
137. O`SULLIVAN, E. A.; CURZON, M. E. J. A comparison of acid dietary factors in children with and without dental erosion. **ASDC J Dent Child**, v.67, n.3, p.186-92, 2000.
138. PEARCE, E. Therapeutic modifications to the mineral ion composition of dental plaque. **Caries Res**, v.18, n.2, p.103-10, 1984.
139. PECHARKI, G. D. et al. Effect of sucrose containing iron on dental biofilm and caries. **J Dent Res**, v.83, 2004. Special issue. /Abstract n. 3436/
140. PECHARKI, G. D. et al. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization in situ. **Caries Res**, v.39, p.123-9, 2005.

141. PEREIRA, J. C. Hiperestesia dentária: aspectos clínicos e formas de tratamento. **Maxi-Odonto: dentística**, v.1, n.2, p.1-24, mar. 1995.
142. PETERSON, G. BRATTHALL, D. The caries decline: a review of reviews. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.4, p.436-43, Aug. 1996.
143. PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and environmental quality**. Lewis Publishers, Boca Raton, 1994. 313p.
144. RAO, S. V. C. Preparation of solid solutions of calcium and iron hydroxylapatites. **J Inst Chem Calcutta**, v.46, p.30-1, 1974.
145. RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radiol Biolog Med**, v.20, p.933-56, 1996.
146. RIOS, D. **Avaliação in situ do efeito erosivo de um refrigerante, associado ou não à escovação e ação salivar, em dentes humanos e bovinos**. Bauru, 2004. 216p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
147. RUGG-GUNN, A. J. et al. Comparison of erosion of dental enamel by four drinks using in intra-oral appliance. **Caries Res**, v.32, n.5, p.337-43, 1998.

148. RYTOMAA, I. et al. In vitro erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and others foodstuffs. **Scand J Dent Res**, v.96, n.4, p.324-33, Aug. 1988.
149. SALES-PERES, S. H. de C. et al. Avaliação in vitro de variáveis relacionadas ao potencial erosivo de cinco refrigerantes. **Braz Oral Res**, v.18, p.218, Sept. 3004. Suplemento. Resumo Pc 123./Trabalho apresentado na 21^a Reunião Anual da SBPqO, Águas de Lindóia, 2004/.
150. SCHEUTZEL, P. Etiology of dental erosion-intrinsic factors. **Europ J Oral Sci**, v.104, n.2, p.178-90, Apr. 1996.
151. SHAW, L.; AL-DLAIGAN, Y. H.; SMITH, A. Childhood asthma and dental erosion. **ASDC J Dent Child**, v.67, n.2, p.102-6, 82, Mar./Apr., 2000.
152. SHAW, L. et al. Tooth wear. Computer assisted learning for general dental practitioners. The University of Birmingham, 1999. In: AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. **J Dent**, v.33, n.3, p.243-52, Mar. 2005.
153. SMITH, B. E. N.; KINGHT, J. K. An index for measuring the wear of teeth. **Brit Dent J**, v.156, p.435-8, June 1984.
154. SMITH, A. J.; SHAW, L. Baby fruit juices and tooth erosion. **Brit Dent J**, v.162, p.65-7, 1987.

155. SMITH, B.G.; ROBB, N. D. The prevalence of tooth wear in 1007 dental patients. **J Oral Rehabil**, v.23, n.4, p.232-91, Apr. 1996.
156. SOBRAL, M. A. P. et al. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento da erosão dental. **Pesqui Odontol Bras**, v.14, n.4, p.406-10, out./dez. 2000.
157. SORVARI, R. et al. Effects of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. **Caries Res**, v.28, p.227-32, 1994.
158. SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego, Academic Press, 1995. 267p.
159. SPENCER, A. J.; ELLI, L. N. The effect of fluoride and grapefruit juice on the etching of teeth. **J Nutr**, v.42, p.107-15, 1950.
160. STEPHAN, R. M. Effects of different types of human foods on dental health in experimental animals. **J Dent Res**, v.45, p.1551-61, 1966.
161. STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic chemistry**: chemical equilibrium and rates in natural waters. 3rd ed. New York, John Wiley e Sons Inc., 1996. 1022p.
162. TENOVUO, J.; LAGERLOF, F. Saliva. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Textbook of clinical cariology**. 2^a Ed. Copenhagen, Munksgaard, 1994. Cap. 2, p. 17-43.

163. TENUTA, L.M.A. **Efeito da placa bacteriana de 4, 7 e 10 dias na desmineralização do esmalte dental "in situ" e possível relação com fatores salivares e microbiológicos.** Bauru, 2001. 136p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
164. TAVES, D. R. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. **Talanta**, v.15, p.969-74, 1968.
165. TEN CATE, J. M.; IMFELD, T. Dental erosion: summary. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.2, p.241-4, 1996.
166. TORELL, P. Iron and dental caries. **Swed Dent J**, v.12, n.3, p.113-24, 1988.
167. TURSSI, C. P. et al. An in situ investigation into the abrasion of eroded dental hard tissues by a whitening dentifrice. **Caries Res**, v.38, n.5, p.464-78, Sept./Oct. 2004.
168. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Textbook of clinical cariology.** 2^a Ed. Copenhagen, Munksgaard, 1994.
169. VAN DIJKEN, J.W.V.; STADIGH, J.; MEURMAN, J.H. Appearance of finished and unfinished composite surface after toothbrushing. A scanning electron microscopy study. **Acta Odont Scand**, v.41, n.6, p.377-83, July 1983.

170. VIEIRA, A. et al. Surface and subsurface analysis of eroded bovine enamel pretreated with fluoride. **Caries Res**, v.38, n.4, p.391, July/Aug. 2004.
171. WANG, L. **Avaliação comparativa da resistência à abrasão de resinas compostas condensáveis, submetidas à escovação simulada, através da alteração de massa e da rugosidade superficial**. Bauru, 2001. 110p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
172. WEISS, G. et al. The effect of iron on in vitro decalcification of human tooth enamel. **J Oral Rehabil**, v.12, n.1, p.91-3, 1985.
173. WEITMAN, R. T.; EAMES, W. B. Plaque accumulation on composite surfaces after various finishing procedures. **J Amer Dent Assoc**, v.91, n.1, p.101-6, July 1975.
174. WEST, N. X. et al. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. **J Dent**, v.26, n.4, p.329-35, May 1998.
175. WEST, N. X. et al. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 2: comparison with a conventional blackcurrant juice drink and orange juice. **J Dent**, v.27, n.5, p.341-4, July 1999.

176. WEST, N. X.; HUGHES, J. A.; ADDY, M. The effect of Ph on erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. **J Oral Rehabil**, v.28, n.7, p.860-4, Sept. 2001.
177. WIEGAND, A.; ATTIN, T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions--a review. **Oral Health Prev Dent**, v.1, n.4, p.245-53, 2003.
178. WILLIAMS, D. et al. The prevalence of dental erosion in the maxillary incisors of 14-year-old schoolchildren living in Tower Hamlets and Hackney, London, UK. **Int Dent J**, v.49, p.211-6, 1999.
179. WUNDER, D.; BOWEN, W. H. Action of agents on glucosyltransferases from *Streptococcus mutans* in solution and adsorbed to experimental pellicle. **Arch Oral Biol**, v.44, n.3, p.203-14, Mar. 1999.
180. YANAGIDA, A. et al. Inhibitory effects of apple polyphenols and related compound cariogenic factors of *mutans streptococci*. **J Agricult Food Chem**, v.48, p.566-71, 2000.
181. YIP, R. Prevention and control of iron deficiency in developing countries. **Curr Issues Public Health**, v. 2, n.516, p.253-63, Oct./Dec. 1996.

182. ZERO, D. T. et al. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. **Caries Res**, v.24, n.2, p.118-8, 1990.
183. ZERO, D. T. In situ caries models. **Adv Dent Res**, v.9, n.3, p.214-30, Nov. 1995.
184. ZERO, D. T. Etiology of dental erosion- extrinsic factors. **Eur J Oral Sci**, v.104, n.2, p.162-77, 1996.
185. ZERO, D. T.; LUSI, A. **Etiology of enamel erosion-** Intrinsic and extrinsic factors: in tooth wear and sensitivity. London, Martin Dunitz Ltd, 2000. p.121-39.

USP

FACULDADE
DE
ODONTOLOGIA
DE
Baurão

Abstract

Abstract

***In situ* evaluation of the effect of a ferrous sulfate solution mouthrinse on the dental surface to reduce the synergistic effect between erosion and abrasion, after the action of a soft drink.**

The aim of this study was to evaluate *in situ* evaluation the effect of ferrous sulfate solution-containing mouthrinse on the reduction of the erosive action and synergistic effect between erosion and abrasion, in human enamel and dentin specimens, when exposed to a soft drink (Coca-cola®). The study was performed in two crossover stages, with 5 days each (SB- without and CB- with mouthrinse). Ten volunteers used palatal appliances with 6 enamel and 6 dentin blocks, arranged in three horizontal rows containing 4 blocks, corresponding to the groups: erosion (Eros); erosion + abrasion (1 Min) and after 30 minutes (30 Min). The appliances were immersed 4 times a day in the drink for 5 minutes. The appliance was placed in the mouth for 1 minute with or without the mouthrinse, depending on the stage. The volunteers then brushed 4 specimens of the row designed as 1 Min with fluoridated dentifrice and placed the appliance into the mouth. After 30 minutes, they brushed 4 specimens of the row designed as 30 Min, and no procedure was performed for the other row (Eros). Analysis was performed

by microhardness (%PDS), surface roughness (μm) and profilometer (μm) tests. ANOVA and Tukey's tests were applied ($p < 0.05$). The %PDS, roughness and wear in enamel were: SB Eros (-80.80%, -0.077 μm , 9.30 μm); SB 1Min (-76.05%, 0.024 μm , 10.70 μm); SB 30Min (-70.79%, -0.160 μm , 10.82 μm); CB Eros (-68.37%, -0.190 μm , 8.56 μm); CB 1 Min (-69.90%, 0.053 μm , 7.13 μm); CB 30 Min (-68.31%, -0.136 μm , 6.81 μm), respectively. Concerning the dentin: SB Eros (-46.09%, -0.050 μm , 8.03 μm); SB 1Min (-35.07%, 0.011 μm , 6.75 μm); SB 30Min (-40.30%, -0.298 μm , 6.13 μm); CB Eros (-41.66%, -0.042 μm , 5.12 μm); CB 1 Min (-41.18%, 0.043 μm , 5.68 μm); CB 30 Min (-40.06%, -0.030 μm , 3.41 μm), respectively. The use of the mouthrinse provided a significant reduction in %PDS for the enamel compared to the condition without mouthrinse, besides significantly smaller wear in dentin, regardless of the situation of erosion. The enamel exhibited more wear than dentin, regardless of the study conditions. It was concluded that mouthrinse with ferrous sulfate solution was able to reduce the dental erosion after the use of soft drink and reduce the synergistic effect between erosion and abrasion, both in human enamel and dentin.