UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

Joana Regina Dokko

Efeito de um gel à base de *Cranberry* sobre a dentina submetida à erosão dentária

BAURU
2013

Joana Regina Dokko

Efeito de um gel à base de *Cranberry* sobre a dentina submetida à erosão dentária

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Saúde Coletiva.

Orientador: Prof. Dr. Heitor Marques Honório

Versão corrigida

BAURU
2013

D685e

Dokko, Joana Regina

Efeito de um gel à base de *Cranberry* sobre a dentina submetida à erosão dentária / Joana Regina Dokko. – Bauru, 2013.

99 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. Heitor Marques Honório

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

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

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 138.243/2012
Data: 31/10/2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha querida e amada prima Isabel Kang (em memória), pois foi a partir dela que nasceu a minha paixão pela Odontologia. Com certeza você foi um exemplo de determinação, de amor e carinho para com todos à sua volta. Como prima você cumpriu seu papel, me ensinando sempre o melhor caminho que eu deveria seguir, através dos seus conselhos, das suas palavras de amor, eu me sinto privilegiada por Deus ter me dado você como prima. Você com certeza sabia como me repreender de forma carinhosa sem me magoar. A sua ausência hoje, ainda dói muito, porém sei que está em um lugar melhor e com certeza está muito mais feliz. Você sempre será lembrada com muito amor através da sua alegria que a todos contagiava, do seu sorriso sincero, do seu olhar de carinho e das suas sábias palavras. Obrigada por sempre ter cuidado, me ensinado, me protegido, muitas vezes ter feito o papel de uma segunda mãe.

Eu te amo...

... Mesmo não estando em nosso meio, você sempre terá um lugar em meu coração e com certeza será um dos grandes motivos para eu nunca desistir de sonhar e correr atrás dos meus objetivos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus,

Por ter me proporcionado bom ânimo e força de vontade, para trilhar mais esta etapa da minha vida, e o mais importante, por ter dado a oportunidade de chegar ao final deste sonho, vitoriosa.

A minha família,

Em geral, por terem me apoiado desde o começo da minha carreira, sempre com palavras de incentivo, de amor e carinho, tanto em momentos de alegria ou tristeza.

Por não terem perdido a esperança mediante asdificuldades.

Aos meus pais, Chan e Ji,

Agradeço por todo amor e dedicação, pela confiança em mim depositada. Sou eternamente grata a vocês. E se hoje eu venci foi por que vocês me proporcionaram todo alicerce necessário para esta conquista. Agradeço pelo total apoio e perseverança, pelo amor incondicional e principalmente pela paciência que tiveram mediante os tropeços e recaídas que tive em toda a minha vida. Eu amo vocês.

Aos meus irmãos, Alex e Jane,

Pelo amor, pela amizade, e pelo companheirismo que existe entre nós desde o início de nossas vidas. Mesmo cometendo erros que talvez tenha afetado toda a nossa família, vocês permaneceram ao meu lado, me dando amor e carinho. Agradeço a Deus pela vida de vocês e por ter me dado irmãos tão abençoados. Eu amo vocês.

Ao meu marido, Michel,

Por todo amor e dedicação, por não ter desistido do nosso amor apesar da distância. Agradeço-te pelo maior presente, nossa filha Júlia. Pelo apoio e incentivo para a conclusão deste trabalho, mesmo sabendo que para isso teria que ficar longe da nossa filha. Eu te amo.

A minha filha, Júlia,

Te agradeço porque você foi o maior motivo para que eu chegasse ao final desta jornada sem fraquejar. Por estar proporcionando os melhores dias da minha vida. E a cada luta que enfrento você, minha querida filha, me dá forças para batalhar e sair vitoriosa. Quero que saiba que você é o motivo pela qual eu oro a Deus para que me dê a cada dia um novo fôlego de vida, e que a cada manhã ele renove as minhas forças para vencer novas batalhas. Tudo isso só para ver você crescer, e ter um bom futuro, para ver o seu sorriso, e simplesmente para ser uma boa Mãe. Eu te amo muito filha.

Ao meu orientador, ProfDr Heitor Marques Honório,

Agradeço pela sua orientação nestes dois anos de mestrado, pela total dedicação e confiança depositada a mim, pela paciência em me ensinar a amadurecer academicamente e profissionalmente. Agradeço por ter tornado este meu sonho uma realidade, pois sem o senhor isso não seria possível! Ao senhor, professor, muito obrigada!

As minhas voluntárias,

Pela total dedicação e comprometimento em benefício deste trabalho. Cada uma foi de total importância para o desenvolvimento deste estudo. Sou grata a cada uma. A vocês muito obrigada!

As minhas amigas e amigos, Águeda, Aline, Adriana, Cris, Elen, Rafael, Ângela, Juliane, Franciny, Melissa, Adriana, Alessandra, Victor, Louise, Tássia, Daniel.

Por estarem presentes em momentos de alegria e de tristeza. Por todo apoio e conselhos oferecidos. Pela compreensão mesmo nos momentos em que estive em falta em relação a nossa amizade. A todos vocês muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

A ProfªDrª, Daniela Rios,

Pela prontidão em me ajudar, disponibilizando suas alunas para fazer parte desta pesquisa. Por se disponibilizar em nos ensinar e auxiliar nas leituras de desgaste.

Aos professores do departamento de saúde coletiva da FOB-USP,

Muito obrigada, pelo total apoio, por terem aberto as portas desta faculdade para a realização do meu sonho. Pelas oportunidades oferecidas para a participação em projetos de pesquisa, de fazer parte da equipe de uma das expedições de Rondônia.

Muito obrigada por todos os ensinamentos, pelo carinho no decorrer deste curso, e por toda atenção oferecida. Sempre me lembrarei de todos e seus ensinamentos irei sempre tentar colocar em prática ao longo da minha vida. Muito obrigada!

As secretárias do departamento,

Pela total atenção em que me atenderam ao longo destes dois anos. Se disponibilizando em ajudar de forma eficaz quando solicitadas.

A instituição de fomento CAPES,

Pelo apoio financeiro concedido.

A Faculdade de Odontologia de Bauru FOB-USP, diretor ProfDr José Carlos Pereira, e à comissão de pós-graduação desta instituição presidida pelo ProfDr Paulo César Rodrigues Conti,

Pelo excelente trabalho e esforço realizado em benefício desta instituição, e do programa de pós-graduação.

Aos funcionários,Telma e Ovidio (Bioquímica), Nelson (Dentística), ao técnico Alcides (Materiais Dentários),

Por serem solícitos e sempre estarem dispostos a nos ajudar com muita eficiência.

A todos que ao longo destes dois anos fizeram dos meus dias nesta faculdade momentos que me lembrarei para sempre com muito carinho e alegria, e que me fazem refletir que já valeu a pena.

"A possibilidade de realizarmos um sonho
é o que torna a vida interessante"

(Paulo Coelho)

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo estudar *in situ* o efeito protetor de um gel à base de *Cranberry* aplicado sobre a dentina submetida à erosão. Este estudo duplo cego e cruzado constou de 2 fases com duração de 5 dias cada. Para tal, 10 voluntários utilizaram2 aparelhos palatinos (um em cada fase) com 4 blocos de dentina bovina divididos em 2 grupos. Na primeira fase estiveram presentes os grupos: G1 – Ação da bebida ácida (Coca-cola®) sobre a dentina bovina sem nenhum tipo de tratamento prévio; G2 - Ação da bebida ácida sobre a dentina tratada com gel à base de *Cranberry* e na segunda fase foi testado os grupos: G3 – Ação da bebida sobre a dentina tratada com gel de aplicação tópica sem nenhum princípio ativo; G4 - Ação da bebida ácida sobre a dentina tratada previamente com gel de Clorexidina. Cada aparelho foi imerso na bebida ácida, 3x/dia, durante 5 minutos por 5 dias. A porcentagem de perda de microdureza de superfície (%PDS) e a perfilometria foram as variáveis utilizadas para quantificar as alterações dadentina. A comparação dos grupos por meio da análise de variância de medidas repetidas seguido do teste de Fisher mostrou haver diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para o desgaste (G1: 4,98 µm ± 1,36; G2: 3,29 µm ± 1,16; G3: 4,38 µm ± 1,19; G4: 3,32 µm ± 1,55) e não apresentou diferenças entre eles na %PDS (G1: 28,12 ± 5,71; G2: 24,92 ± 5,38; G3: 25,74 ± 9,15; G4: 29,83 ± 8,63).Assim, quanto ao desgaste não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e placebo, também não houve uma diferença entre os grupos *Cranberry* e clorexidina. Porém, os grupos *Cranberry* e clorexidina apresentaram menores valores de desgaste em relação aos grupos Placebo e Controle (sem gel), sendo esta diferença estatisticamente significativa. Os resultados obtidos nesse estudo sugerem uma significativa eficácia dos géis ativos à base de *Cranberry* e de Clorexidina na prevenção do desgaste da dentina submetida à erosão dentária.

Palavras-chave: Dentina. Erosão Dentária. Metaloproteinases da Matriz.

ABSTRACT

Effect of *Cranberry*based gel subjected to dentin of dental erosion

The aim of this study is to evaluate the in situ effect of a *Cranberry* gel over dentine submitted to a erosive challenge. This crossover doble-blinded study was performed in 2 phases of 5 days each. For that purpose, 10 volunteers wore 2 palatal devices (1 for each phase) with 4 dentin specimens divided into 2 groups: First Phase: G1 - Erosive challenge (Coca-cola®) over dentine without any previous treatment; G2 - Erosive challenge over dentine previously treated with *Cranberry* gel; and Second Phase: G3 - Erosive challenge over dentine previously treated with a gel withot any active principle; G4 - Erosive challenge over dentine previously treated with Clorexidine gel. Each device was immersed into the acid beverage, 3 times daily for 5 minutes during 5 days. The surface microhardness change percentage (%SMC) and profilometry were be used to quantify the dentin alteratons. The comparison between groups by repeated measures analysis of variance followed by Fisher's test showed statistically significant differences between groups for wear (G1: 4.98 ± 1.36 mM, G2: 3.29 ± 1 mM, 16, G3: 4.38 ± 1.19 mM; G4: 3.32 ± 1.55 mM) and showed no differences b in% SMH (G1: 28.12 ± 5.71; G2: 24.92 ± 5.38, G3: 25.74 ± 9.15; G4: 29,83 ± 8,63). So as to wear there was no statistically significant difference between the placebo and control groups.There was also no difference between *Cranberry* and chlorhexidine groups. However, *Cranberry* and chlorhexidine groups presented lower wear compared to placebo and control groups (without gel), and this difference was statistically significant. The results of this study suggest a significant efficacy of active gels based *Cranberry* and chlorhexidine in preventing wear of dentin subjected to dental erosion.

Keywords: Dentin. Dental erosion.Matrix Metalloproteinases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 - Grupos experimentais do estudo 46

Figura 2 - Fluxograma ilustrando o delineamento experimental do trabalho 47

Figura 3 - Máquina de corte 50

Figura 4 - Politriz metalográfica 51

Figura 5 - Microduromêtro acoplado ao computador 53

Figura 6 - Ponta penetradora tipo Knoop 53

Figura 7 - Imagem em maior aumento da endentação feita para avaliação de microdureza 53

Figura 8 - Perfilômetro acoplado ao computador 55

Figura 9 - Ponta apalpadora e dispositivo adaptador do espécime 55

Figura 10 - Géis utilizados no experimento 56

Figura 11 - Proteção dos espécimes 57

Figura 12 - Dispositivo palatino 59

Figura 13 - Kit para os voluntários 59

Figura 14 - Ilustração esquemática mostrando a quantificação do desgaste pelo perfilômetro 62

Figura 15 - Desgaste dos espécimes testadosocasionado pela erosão 63

Figura 16 - Porcentagem de Perda de Dureza Superficial (%PDS) dos 4 grupos avaliados 67

Figura 17 - Desgaste (µm) dos 4 grupos avaliados 69

TABELAS

Tabela 1 - Valores de Porcentagem de Perda de Dureza Superficial (%PDS) dos 4 grupos avaliados 68

Tabela 2 - Valores de Desgaste (µm) dos 4 grupos avaliados 69

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS, SÍMBOLOS E PALAVRAS DE ORIGEM ESTRANGEIRA

In situ.....do latim, em sítio, no local (cavidade bucal)
µm .....micrometro
®.....marca registrada
% .....por cento
± .....mais ou menos
pH.....potencial hidrogeniônico
MMP .....metaloproteinase
In vitro.....latim, em laboratório
In vivo.....do latim, em ser humanos
Vacciniummacrocarpon .....*Cranberry*
p .....nível de significância
F .....flúor
$FeSO_4$.....sulfato ferroso
mmol/L.....concentração molar
dP .....desvio padrão
Min.....minutos
s .....segundos
PPM.....parte por milhão
mm .....milímetro
MG.....micrograma
Kg .....kilo
PAC .....proantocianidinas
CJC .....suco de baixa caloria
mL .....mililitros
cm.....centímetro
h .....horas
PDS .....porcentagem de desvio padrão
EMMPRIN.....expressão imuno histoquímica
NF-kB .....fator nuclear kappa B
TIMP-2.....inibidor de metaloproteinase2
MAP quinase .....proteíno-quinases ativadas por mitógenos
PI-3-quinase .....fosfoinositídeo 3-quinase

SUMÁRIO

1 **INTRODUÇÃO** **15**
2 **REVISÃO DE LITERATURA** **21**
2.1 Dados epidemiológicos do desgaste dentário 23
2.2 Metaloproteinases (MMPs) 26
2.3 Inibidores de MMPs 27
2.4 Ações da clorexidina 29
2.5 Ações da *Cranberry* 31
3 **PROPOSIÇÃO** **39**
4 **MATERIAL E MÉTODOS** **43**
4.1 Aspectos éticos 45
4.2 Delineamento experimental 45
4.3 Preparo dos espécimes de dentina 48
4.4 Planificação e polimento dos espécimes de dentina 50
4.5 Avaliação da microdureza superficial inicial 51
4.6 Avaliação do desgaste inicial 53
4.7 Preparação dos géis 55
4.8 Proteção dos espécimes 56
4.9 Seleção dos voluntários 57
4.10 Preparo do dispositivo intrabucal palatino 58
4.11 Kits entregues aos voluntários 59
4.12 Tratamento e procedimentos intrabucais 60
4.13 Análise da microdureza superficial final 61
4.14 Avaliação do desgaste final 62
4.15 Análise estatística 63
5 **RESULTADOS** **65**
5.1 Dureza 67
5.2 Desgaste 68
6 **DISCUSSÃO** **71**
7 **CONCLUSÕES** **81**
REFERÊNCIAS **85**
ANEXOS **95**

1 Introdução

Durante décadas a maior preocupação da classe odontológica foi a cárie dentária. Atualmente outra alteração, o desgaste dentário, vem chamando a atenção devido a sua grande prevalência principalmente nos últimos vinte anos (BARTLET, 2006; ECCLES, 1979, 1974; GANSS, 2006; NUNN, 1996; RIOS et al., 2007; ZERO, 1996).

Tradicionalmente o desgaste dentário é subdividido em três categorias: atrição, abrasão e erosão (BARTLET, 2006; ECCLES, 1982, 1974; GANSS, 2006; HARA; LUSSI; ZERO, 2006; IMFELD, 1996). A atrição é definida como perda superficial de estrutura dentária resultante de contatos dentários e a abrasão também é tida como uma perda superficial, entretanto originada por forças mecânicas entre as quais destaca-se a escovação dentária (ECCLES, 1982; IMFELD, 1996; MAGALHAES et al., 2009; RIOS et al., 2006, 2007).

O mecanismo causal da erosão já é mais complexo, podendo ocorrer por fatores extrínsecos e/ou intrínsecos. Constitui-se na perda superficial de estrutura dentária devido a uma ação química, sem envolvimento de microrganismos e pode envolver inúmeros processos na cavidade bucal (ECCLES, 1979; IMFELD, 1996; LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; MEURMAN; TEN CATE, 1996; ZERO, 1996).

A erosão intrínseca é o resultado da ação de ácidos produzidos por vômitos, como parte da anorexia ou bulimia, regurgitação do conteúdo gástrico e refluxos recorrentes (BARBOSA et al., 2009; BARTLETT, 2006; MAGALHAES et al., 2009; O’SULLIVAN, 1998; RYTOMAA,1998; SCHEUTZEL, 1996; ZERO, 1996). Já a extrínseca ocorre por meio de ácidos de origem exógena, incluindo substâncias ácidas, bebidas, alimentos ou exposição ambiental a agentes ácidos (JAEGGI; LUSSI, 2006; NUNN, 1996; POWELL; ECCLES, 1970; ZERO, 1996).

Os fatores extrínsecos são bastante freqüentes e estudos de prevalência e relatos de casos clínicos têm demonstrado a associação dos hábitos dietéticos com a erosão dentária (ECCLES, 1979, 1974; MEURMAN; TEM CATE, 1996; NUNN, 1996; ZERO, 1996). A dieta que sabidamente causa erosão inclui todos os tipos de alimentos e bebidas ácidas com baixa concentração de cálcio e fosfato. Os agentes erosivos caracterizam-se por serem altamente subsaturados de cálcio, fósforo e flúor quando comparados à hidroxiapatita e fluoridroxiapatita (BARBOSA et al., 2009). Isto assegura a dissolução dos prismas de esmalte superficiais sem a formação de uma superfície de fluoridroxiapatita, ou seja, sem a formação de uma lesão subsuperficial como ocorre na cárie dentária (ECCLES, 1982; HONORIO et al., 2010; IMFELD, 1996).

Já o componente mineral da dentina é formado por cristais de hidroxiapatita substituíveis. Os cristais são pobres em cálcio, fosfato e sódio e ricos em magnésio e carbonato em comparação à hidroxiapatita do esmalte e apesar de similares em forma são menores que aqueles do esmalte (SILVERSTONE; HICKS, 1985). O menor tamanho apresentado pelos cristais da dentina permite uma maior área de superfície, que é mais susceptível ao ataque ácido. Devido a estas características, o pH crítico para desmineralização da dentina é 6,5 (SILVERSTONE; HICKS, 1985). Os cristais de hidroxiapatita na dentina mineralizada são encontrados sobre e entre as fibrilas colágenas.

A matriz orgânica dentinária consiste em 90% de fibrilas colágenas (colágeno do tipo I) (MAGALHAES et al., 2009; PASHLEY et al., 2004; SILVERSTONE; HICKS, 1985). Os componentes não-colágenos fazem parte dos 10% restantes e são compostos por fosfoproteínas da dentina, proteoglicanas e glicosaminaglicanas (MAGALHAES et al., 2009; PASHLEY et al., 2004;

SILVERSTONE; HICKS, 1985). Além disso, a dentina contém enzimas como as metaloproteinases de matriz (MMP 2, MMP 8 e MMP 9). As MMPs tornam-se ativas quando o pH cai, durante o metabolismo bacteriano ou ingestão de bebidas ácidas, sendo que a subsequente neutralização salivar permite a degradação da matriz orgânica dentinária, uma vez que as MMPs, embora sejam ativadas em pH ácido, não conseguem degradar a matriz dentinária neste pH (TJADERHANE et al., 1998). Indivíduos com alta concentração de MMPs salivares têm maior incidência de cárie (TJADERHANE et al., 1998).

Casos severos de erosão dentária podem estar acompanhados de exposição dentinária e tal fato normalmente estão associados com a presença de dor e hipersensibilidade (O'SULLIVAN et al., 1998; RIOS et al., 2007; RYTOMAA et al., 1998). Desta forma, a prevenção deste tipo de alteração minimizaria a ocorrência de tais desconfortos ao paciente.

Em função da pouca quantidade de estudos investigando o papel das MMPs na erosão dentária, especula-se que devam ocorrer neste tipo de alteração, processos semelhantes aos que ocorrem na cárie dentária (CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006). Neste sentido, a manutenção da matriz orgânica de colágeno da dentina erodida pode diminuir a intensidade de progressão de futuros desafios erosivos e tal fato pode ser obtido por meio do uso de inibidores das MMPs. Esta estratégia tem sido bem sucedida com a utilização da Clorexidina e do Chá Verde como inibidores das MMPs, atuando na redução da degradação da matriz colagênica tanto em estudos *in vivo* (HEBLING et al., 2005)como *in vitro* (CARRILHO et al., 2007).

Neste sentido, métodos alternativos que possam ter uma ação inibitória das MMPs e conseqüentemente a minimização dos efeitos deletérios dos agentes erosivos sobre a estrutura dentinária são bem aceitos.

Em pesquisas médicas, sobre cárie dentária e doença periodontal, alguns benefícios relacionados aos polifenóis do suco de *Cranberry* (Vacciniummacrocarpon) ou extraídos da própria fruta tem sido cientificamente verificados. Trabalhos mostraram que alguns compostos da *Cranberry* podem também limitar o câncer de próstata por meio da inibição de metaloproteinases (DEZIEL et al., 2010; KONDO et al., 2011). Ruelet al.(2009) verificaram que o consumo de suco de *Cranberry* esteve associado com uma diminuição da concentração plasmática da MMP-9 em obesos. Tem sido demonstrado que o extrato de *Cranberry* possui a capacidade de inibir a adesão dos *S.sobrinus* às estruturas dentárias (WEISS et al., 2004), além de reduzir a formação de biofilme de *S.mutans* em estudos *in vitro* (KOO et al., 2010), bem como o desenvolvimento da cárie dentária em estudos *in vivo*(KOO et al., 2010). Além disso, Bodet; Chandad; Grenier (2007) relatam que baixas concentrações do extrato de *Cranberry* são capazes de inibir a secreção das MMP-3 e MMP-9 pelos fibroblastos e macrófagos após estímulo de agentes responsáveis por problemas periodontais. La, Howell; Grenier (2009) verificaram que a *Cranberry* foi capaz de inibir a produção de algumas MMPs em periodonto inflamado e a atividade catalítica das MMP-1 e MMP-9 foi também inibida nestas condições.

Face ao acima exposto e considerando a possibilidade de que os componentes da *Cranberry* possam inibir as metaloproteinases da dentina exposta a agentes erosivos, minimizando assim os efeitos deletérios de agentes erosivos sobre a estrutura dentinária, este estudo *in situ* teve como objetivo avaliar por meio de duas variáveis de resposta (desgaste e microdureza superficial), o possível efeito protetor de um gel à base de *Cranberry* aplicado sobre a dentina submetida à ação de agentes erosivos.

2 Revisão de Literatura

Este cápitulo irá abordar assuntos como: dados epidemiológicos do desgaste dentário,a função das MMPs, os possíveis inibidores das MMPs e os efeitos da clorexidina e da *Cranberry* na medicina e sobre a estrutura dentária para um melhor esclarecimento sobre os temas que permeiam este trabalho.

2.1 Dados epidemiológicos do desgaste dentário

De acordo com Dugmore; Rock (2003), avaliar com precisão a prevalência de erosão dentária de acordo com a literatura é muito difícil, pois não há um conceito padrão para se avaliar clinicamente esta alteração. A prevalência de erosão dentária varia muito na literatura, podendo ser avaliada especificamente através da idade, país e outros diferentes padrões de avaliação. A prevalência média de erosão dental é 34,1% nas crianças e 31,8% nos adultos. Existe uma clara tendência de aumento da prevalência em relação à idade (crianças e adultos). A erosão dentária tem sido considerada uma condição comum limitada a países desenvolvidos (DUGMORE; ROCK, 2003; VAN RIJKOM et al., 2002).

Segundo Amaral et al. (2008) e Mondelli (2003) na literatura encontra-se uma pouca variedade de material em relação à prevalência da erosão dentária, é devido o objetivo destes estudos publicados seja entender a etiologia do desgaste, porém sem quantificar a extensão epidemiológica. Portanto o objetivo deste autor foi realizar um estudo para identificar a prevalência e a severidade do desgaste dentário em crianças de cinco anos de idade. Este estudo foi do tipo transversal, a amostra foi composta por alunos matriculados nos centros educacionais (n=291), os alunos foram selecionados de forma aleatória. Para a coleta dos dados, foi adotado como critérios de diagnóstico o Método de Hugoson e colaboradores (1988). Os resultados

mostraram que a prevalência de desgaste foi de 95,2% e 4,8% dos avaliados eram livres de desgaste. Comprovou-se que os dentes mais afetados foram os caninos e os incisivos centrais. Desta forma, concluíram que há uma alta prevalência de desgaste dentário na população do estudo, porém a severidade não tenha sido significativa.

Já emum estudo de MANGUEIRA et al., 2009, os autores avaliaram a prevalência de erosão dentária e identificaram os fatores etiológicos associados ao aparecimento e desenvolvimento desta condição dental em escolares de 6 a 12 anos na cidade de João Pessoa, Paraíba. Tiveram a participação de 250 escolares da rede educacional pública e privada. A prevalência de escolares com pelo menos um dente afetado pela erosão foi de 21,6%. Já em relação ao sexo não houve diferença significativa (p=0,335) nem em relação ao tipo de escola (p=0,958). As únicas variáveis significativas foram a idade (p=0,008) e consumo de suco industrializado (p=0,030) em um modelo de regressão logística. Em relação a erosão dentária, a superfície mais afetada foi a palatina, com 32%. Dos quatro níveis de severidade observados, 66,7% foram classificados no grau mais leve, 77% dos dentes afetados apresentaram menos da metade de área superficial afetada.Diante destes resultados, os autores puderam concluir que a prevalência de erosão dentária nessa população foi elevada e com baixa severidade, e que o consumo de suco industrializado foi o fator associado mais relevante para o desenvolvimento das lesões de erosão (MANGUEIRA et al., 2009).

Em 2012 Mohammad e Garib (2012) realizaram um estudo em que o objetivo foi determinar os indicadores de prevalência e risco para o desgaste do dente em jovens de 18 a 25 anos na cidade de Sulaimani(Iraque). Um total de 500 estudantes selecionados aleatoriamente foram examinados. Os dados foram

coletados por meio de um questionário sobre a história de possíveis fatores causais e de um exame clínico (Smith&Kinght) e índice de Cavaleiro em superfícies oclusal/incisal, vestibular e lingual/palatino. O desgaste dentário leve (nível 1) estava presente em 63,4%, enquanto apenas 0,4% apresentaram lesões estendendo-se até a dentina. Houve 36,2% sem desgaste dentário, não apresentando nenhuma evidência em relação a pontuação 3 ou 4 pontos. As bordas incisais dos dentes tanto superiores como inferiores foram as áreas mais acometidas (75,51%). O desgaste oclusal foi o fator predisponente mais comum (72,73%). Diante dos resultados apresentados pode-se concluir que o desgaste dentário nesta faixa etária não é de grande preocupação, já que apresentou um nível 1, considerado leve. Porém não a prevenção não deve ser deixada de lado, para que esses valores não tenham um aumento futuro.

Vários trabalhos mostram que a incidência da erosão dentária é elevada (MILLWARD et al. (1994), como ocorreu no estudo de Al – Dlaigan et al. (2001), em que foi avaliado a erosão dentária em estudantes britânicos com idade média de 14 anos. Constatou-se neste estudo uma alta incidência desta alteração com cerca de 51% apresentando erosão moderada, e em 48% desta população foi encontrada erosão baixa (AGUIAR et al. 2006).

Todos esses resultados de alta prevalência e incidência de erosão dentária se devema diversos fatores, ou seja, ocorre devido ao estilo de vida atual da população em geral, como: uso contínuo de medicamentos com pH baixo, ingestão de bebidas ácidas, condições de trabalho, atividades físicas, tipos de dieta, doenças gastroesofageal (AGUIAR et al., 2006; AMAESHI; HIGHAM, 2001).

Com base nos artigos mencionados acima, a erosão dentária é uma condição comum, e sua prevalência parece significativa. A intervenção precoce é a

chave para prevenir eficazmente o desgaste dentário erosivo. (JAEGGI; LUSSI. 2006).

2.2 As Metaloproteinases (MMPs)

Existem poucos trabalhos realizados pesquisando o papel das MMPs na erosão dentária, porém acredita-se que devam ocorrer processos semelhantesaos que ocorrem na cárie dentária (CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006).Estão presentes na dentina e na saliva, as proteases que são responsáveis por degradar quimicamente a matriz orgânica da dentina (KATO et al., 2009).

A taxa de desmineralização na dentina diminui quando a quantidade de colágeno degradável aumenta, portanto, buscava-se sempre a manutenção da matriz colagênicada dentina desminarealizada, pois esta dificultaa difusão iônica para dentro e para fora da área desmineralizada(KATO et al., 2010).

Em estudos realizadosem dentina, KATO et al. (2009, 2010)verificaram a formaçãode lesões erosivas com a exposição de uma camada exterior de matriz orgânica colagênica totalmente desmineralizada, seguida por uma área parcialmente desmineralizada até a dentina interna. A diminuição da matriz colágenada da dentina ocorre após ficar exposta à remoção do mineral que a protege, isto é, a matriz de dentina não pode ser degradada a menos que a estrutura dentinária esteja desmineralizada. No entanto, a matriz orgânica pode ser degradada mecânica e quimicamente, o que pode contribuir para uma progressão acelerada da dentina erodida (KATO et al., 2009, 2010).

Quimicamente, a matriz orgânica da dentina pode ser degradada por MMPs quemediam a quebra de praticamente todas as moléculas da matriz extracelular, incluindo colágeno nativo e desnaturado (KATO et al., 2010).As MMPs são responsáveis por hidrolisar os componentes da matriz extracelular durante a remodelação e degradação dos processos no ambiente oral(KATO et al., 2009). As MMP-2, MMP-8 e MMP-9 estão presentes na dentina humana, porém a MMP-8 pode ser considerada a colagenase humana mais importante nadentina, eas MMP-2 e MMP-9 tem a função de degradar o colágeno em lesões de cárie dentinária(KATO et al., 2010).

2.3 Inibidores de MMPs

Os inibidores de MMP estão sendo investigados como potentes agentes terapêuticos no tratamento e prevenção de várias doenças, incluindo diversas doenças orais. Portanto, a utilização de inibidores de MMP tem sido testado em uma tentativa de resolver muitos problemas na cavidade oral(KATO et al., 2010).

A manutenção da matriz orgânica de colágeno da dentina erodida pode diminuir a intensidade de progressão de futuros desafios erosivos e tal fato pode ser obtido por meio do uso de inibidores das MMPs (HEBLING et al., 2005; CARRILHO et al., 2007). Esta estratégia tem sido bem sucedida com a utilização da Clorexidina e do Chá Verde, atuando na redução da degradação da matriz colagênica tanto em estudos *in vivo* (HEBLING et al., 2005) como *in vitro* (CARRILHO et al., 2007).

A clorexidina, tem sido utilizada por muitos estudos, sendo sugerida como uma ferramenta útil na prevenção da degradação de fibrilas de colágeno infiltradas por MMPsnas camadas híbridas, aumentando assim a longevidade das

restaurações adesivas. Os polifenóis do chá verde, especialmente epigalocatequina-3-galato, também foram testados para ter atividade inibitória contra MMPsdistintas (CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006; KATO et al., 2010)e em testes de cultura de células. O epigalocatequina-3-galato apresenta ligação de hidrogênio e interações hidrofóbicas com colagenases, as quais são responsáveis pela alteração na estrutura secundária de colagenases e, consequentemente, para a inibição das MMPs.

Kato et al.(2010) realizaram um estudo em que se testou a hipótese de que os géis contendo inibidores de MMPs (epigalocatequina-3-galato e clorexidina) poderiam impedir erosão dental. O estudo foi realizado com 10 voluntários, estes utilizaram dispositivos palatinos contendo blocos de dentina bovina tratados por 1 min com epigalocatequina-3-galato em 10 (epigalocatequina-3-galato 10) ou 400 µm(epigalocatequina-3-galato 400), clorexidina a 0,012%, F em 1,23%, e nenhum principío ativo (placebo). A erosão foi realizada com a Coca-Cola® (5 min) 4X/dia durante 5 dias. O desgaste, foi avaliado por perfilometria (média ± SD, mm), e o resultado foi significativamente reduzido nos géis contendo inibidores de MMP (0,05 ± 0,02, 0,02 ± 0,04 e 0,05 ± 0,02 para epigalocatequina-3-galato 10, epigalocatequina-3-galato 400 e clorexidina, respectivamente) quando comparado com os géis F (0,79 ± 0,35) e placebo (1,77 ± 0,35)(KATO et al., 2010).

O extrato de chá verde contém 30% de epigalocatequina-3-galato, um polifenol que inibe MMPs, que por sua vez foi recentemente apresentado reduzindo a perda de dentina através de bochechos realizados com chá verde (MAGALHAES et al., 2009). Além disso, o chá verde é um produto natural, e não tem efeitos secundários na concentração utilizada, e o seu consumo tem sido associado com a promoção de saúde (BARBOSA; KATO; BUZALAF, 2011),

Além da Clorexidina e do chá-verde podem ser utilizados como inibidores de MMPs, o zinco, o $FeSO_4$ e outros metais equivalentes(KATO et al., 2010).

Em 2010 outro estudo realizado por Kato et al,(2010) testaram *in vitro* o efeito de $FeSO_4$ em MMP-2 e -9, e avaliou *in situ* o efeito de $FeSO_4$ em gel sobre a erosão da dentina. As atividades MMP-2 e MMP-9 de foram analizados pelo método da zomografia em tampão contendo $FeSO_4$ em concentrações que variavam entre 0,05 e 1,5 mmol/L ou não. Dez voluntários utilizaram dispositivos que continham blocos de dentina bovina (n = 60). Os espécimes foram previamente tratados com os seguintes princípios ativos: gel de $FeSO_4$ (1 mmol/L, $FeSO_4$), F (1,23%; controle positivo) e o placebo (controle negativo). O géis foram aplicados uma vez e removido após 1 min. A erosão foi realizada extra-oral, imergindona Coca-Cola® 4 vezes por dia por 5 minutos ao longo de 5 dias. O desgaste da dentina foi avaliada por perfilometria. O $FeSO_4$ inibiu a atividade de MMP-2 e MMP-9. No experimento *in situ*, o desgaste (± dP) encontrado para o gel F (0,79 ± 0,08 µm) foi significativamente reduzida em mais de 50% quando comparado com o gel placebo (1,77 ± 0,33 µm), mas o gel de $FeSO_4$ inibiu completamente o desgaste (0,05 ± 0,02 µm) (KATO et al., 2010).

2.4 Ações da Clorexidina

Para esta pesquisa foi selecionada a clorexidina como controle positivo devido a sua variedade e quantidade de estudos utilizando-a como inibidor de MMP na erosão dentária em dentina. A clorexidina é um potente inibidor de MMPs(MMP-2, MMP-8 e MMP-9), ela age prevenindo a degradação da dentina híbrida e a solubilização do colágeno de dentina (MAGALHAES et al., 2009). Também é

considerada um excelente agente antimicrobiano, ela atua na desorganização geral da membrana celular e age inibindo específicamente as enzimas da membrana e a incorporação de glicose pelos S. mutans e seu metabolismo para o ácido lático, reduzindo a atividade proteolítica do *P.gengivalis* (TORRES et al., 2000).

Em um de seus estudos, Kato et al. (2010), avaliaram a hipótese de géis contendo inibidores de metaloproteinases, mais especificamente epigalocatequina-3-galato e clorexidina, na prevenção de erosão dentinária. O estudo foi realizado com a participação de 10 voluntários, eles utilizaram dispositivos palatinos contendo blocos de dentina bovina tratados por 1 min com epigalocatequina-3-galato em 10 µm ou 400 µm, clorexidina a 0,012%, F em 1,23%, e nenhum principío ativo (placebo). A Coca-Cola® utilizada durante 5 min 4X/dia durante 5 dias foi o agente erosivo selecionada para este estudo. Os dados para avaliação do desgaste foram obtidos através da perfilometria (média ± dP), e o resultado foi estatisticamente reduzido nos géis contendo inibidores de MMP (0,05 ± 0,02, 0,02 ± 0,04 e 0,05 ± 0,02 para epigalocatequina-3-galato 10 µm, epigalocatequina-3-galato 400 µm e clorexidina, respectivamente) quando comparado com os géis F (0,79 ± 0,35) e placebo (1,77 ± 0,35).

Já outro estudo realizado por Magalhaes et al. (2009) teve o objetivo de estudar *in situ / ex vivo* o impacto dos possíveis inibidores de MMPs (Clorexidina e extrato de chá verde) na dentina desgastada induzida pela erosão ou erosão/abrasão. Doze voluntários participaram deste estudo cruzado e duplo-cego realizado em 4 fases a cada 5 dias. Amostras de dentina bovinos foram utilizados em dispositivos palatinos e sujeitos à erosão fora da boca (4 vezes/dia, 5 min em Coca-Cola®) ou por abrasão (creme dental com flúor-livre e escova de dentes elétrica, 15 s/amostra, 2 vezes/dia,). Imediatamente após cada erosão, os

dispositivos foram reinseridos na boca, em seguida foi realizado o bochecho durante 60 segundos com: solução a 250 ppm de F, Digluconato de clorexidina 0,12%, solução de extrato de chá verde 0,61% e água deionizada como controle. A perda de dentina foi avaliada por meio da perfilometria (mm). As soluções com F, clorexidina e extrato de chá verde mostraram estatisticamente uma redução do desgaste na dentina, tanto para a erosão, e erosão/abrasão, quando comparado com o grupo controle. Não houve uma diferença significativa entre os grupos: F, clorexidina e extrato de chá verde.

2.5 Ações da Cranberry

Cranberry é um termo derivado de " guindaste Berry." Esse nome é decorrente do apelido da flor de mirtilo, que, quando ela murcha, possui a aparência da cabeça e do pescoço do “guindaste de areia”, um pássaro que muitas vezes se alimenta dos frutos desta planta. A *Cranberry*é parte da família das Ericaceae, ela cresce em pântanos e em florestas úmidas(HISANO et al., 2012),

A *Cranberry* americano (Vacciniummacrocarpon) era utilizada por índios norte-americanos para tratar infecções do trato urinário, na dieta (como um edulcorante ou na secagem de carne e peixe), como um remédio na desinfecção de feridas, redução da dor causada por indigestão e em higiene bucal e dental (HISANO et al., 2012; DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011). Na Europa Oriental, esta fruta foi utilizada como um antitérmico e remédio anti câncer e, sendo rico em vitamina C, foi carregado em navios para prevenir o escorbuto. Foi usada como um remédio popular para UTI, antes da introdução de antibióticos, e continua a ser amplamente

utilizada para esta finalidade.Em 1997, foi um dos dez mais vendidos remédios fitoterápicos nos Estados Unidos (DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011).

Existem outros parentes da família da *Cranberry*: (*Cranberry*Europeia - V, oxycoccus; lingonberry - V, vitisidaea; blueberry - V, myrtillus) que possuem alguns dos componentes básicos de *Cranberry*(HISANO et al., 2012).

Arando, como também é chamado a *Cranberry* é composta de água (88%), ácidos orgânicos (incluindo salicilato), frutose, vitamina C (200 mg/kg de frutas frescas), flavonóides, antocianidinas, catequinas e triterpinoids.Os constituintes químicos responsáveis pelo seu sabor são os glicosídeos iridóides. O antocianidinas e proantocianidinas (PAC) são taninos (polifenóis estáveis) encontrados apenas em frutas, e o Vaccinium funciona como um sistema de defesa natural da planta contra os micróbios (HISANO et al, 2012).

O conceito de saúde em relação às bebidas se desenvolveu rapidamente em todo o mundo, com o surgimento de vários sucos de frutas com evidências promissoras para inúmeros benefícios terapêuticos. Uma dessas populares bebidas de fruta é o suco de *Cranberry*, cujo efeito benéfico na prevenção de infecções bacterianas especialmente no trato urinário está bem estabelecido. Suco de *Cranberry* tem sido extensivamente estudado para inúmeros outros benefícios terapêuticos como na: diabetes, síndrome metabólica, obesidade, prevenção dos riscos de doenças cardiovasculares, infecções bacterianas e doenças odontológicas (NUGGEHALLY, 2013).

Infecções do trato urinário são doenças muito comuns, As infecções urinárias recorrentes continuam sendo um desafio para se tratar, pois a opção principal de tratamento é a profilaxia antibiótica em longo prazo, porém, isso representa um risco para o aparecimento de resistência bacteriana. Algumas opções

para evitar este risco estão disponíveis, incluindo o uso de produtos à base de *Cranberry* (HISANO et al.,2012).

A maior parte dos estudos com *Cranberry* tem sido verificado principalmente na área da medicina. Em um recente trabalho, foram estudados possíveis mecanismos de ação dos compostos da *Cranberry*, atuando como análogos do receptor, inibindo competitivamente a adesão de E. coli às células hospedeiras, ligando as pontas das fímbrias (HISANO et al,, 2012; DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011).Já outro mecanismo de ação é a redução na expressão de p-(fímbrias) em E.Coli, alterando a conformação de moléculas de superfície, a neutralização do pH causada pelo suco de *Cranberry* induziu as mudanças conformacionais nas macromoléculas superficiais das fímbrias por E. coli reduzindo especificamente o comprimento e a densidade das fimbrias, impedindo também a aderência deste hospedeiro no trato urinário (HISANO et al,, 2012; DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011).

Acredita-se que o principal componente da *Cranberry* responsável pela ação anti-bacteriana e anti-séptica seja as proantocianidinas (DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011).

Dessìet al. (2011) realizaram uma revisão de literatura investigando a utilização da *Cranberry* em infecções do trato urinário em crianças.Estas infecções são comuns na infância e 30-50% das crianças são acometidas devido ao refluxo vesico-ureteral, bexiga neurogênica, cistite anterior ou pielonefrite e uropatias de malformação. Para reduzir a probabilidade de infecções do trato urinário em crianças, a profilaxia antibiótica foi considerada padrão, porém o uso do suco de *Cranberry* preenche as necessidades, substituindo ou melhorando os procedimentos tradicionais. A finalidade deste estudo foi avaliar a eficácia da *Cranberry* na

prevenção de infecção urinária em pacientes pediátricos. Foram avaliados três estudos sobre *Cranberry* utilizados em pacientes com infecção urinária, três estudos com pacientes possuindo refluxo vesico-ureteral e quatro estudos analisado a eficácia da *Cranberry* em crianças com bexiga neurogênica. Em sete dos nove estudos a *Cranberry* teve um efeito significativo na prevenção das infecções urinárias (DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011).

Outro estudo avaliando a eficácia da *Cranberry* objetivou determinar o efeito do crescente consumo de doses diárias de suco de *Cranberry* de baixa caloria (CJC) nas dosagens de MMP-9 no plasma sanguíneo de homens com obesidade abdominal. Este trabalho foi composto por trinta homens, onde eles consumiram doses crescentes de CJC durante três períodos sucessivos de 4 semanas (semanas 1-4: 125 ml/dia, 5-8 semanas: 250 ml/dia, e de 9-12 semanas: 500 ml/dia). Antes e depois de cada fase, uma série de estudos físicos e metabólicos foi realizada. Foi observado que a suplementação CJC diminuiu significativamente as concentrações plasmáticas de MMP-9, enquanto que no plasma a linha de base de MMP-9 teve concentrações fortemente correlacionadas com as alterações observadas por toda a intervenção. Foi apresentado também que a redução dos níveis de MMP-9 de plasma foi associada com uma alteração nos nitritos de plasma/nitratos. Correlações significativas durante o estudo foram notadas entre as alterações dos níveis de MMP-9 e as de plasma arterial sistólica e diastólica, pressão sanguínea (semana 12 vs basal) (RUEL et al., 2009).

Em 2010 Dézielet al.(2010) analisaram os efeitos de proantocianidinas (PACs) a partir da *Cranberry* (Vacciniummacrocarpon) sobre a atividade de metaloproteinases de matriz (MMP).Células humanas cancerosas da próstata,tiveram sua viabilidade celular diminuída a uma concentração de 25 mg/ml

em 30% após 6 horas de tratamento. O tratamento das células PACs com DU145 resultou numa inibição de atividade de ambas as MMPs2 e 9, PACs aumentou a expressão de TIMP-2, um inibidor de atividade conhecido como MMP, e diminuiu a expressão de EMMPRIN, um indutor da expressão de MMP. Estes resultados mostraram que PACs do *Cranberry*diminuiram a atividade de MMP através da indução e ou inibição de reguladores específicos de MMP temporais, afetando tanto o estado de fosforilação e ou expressão da MAP quinase, PI-3-quinase, o NF-kB e AP-1. Este estudo demonstra ainda que PACs, *Cranberry* são um forte candidato para uma futura investigação como agentes anti-câncer.

A *Cranberry* está disponível comercialmente na forma de fruta inteira, frutas secas adoçadas, sucos e coquetéis, molhos, e suplementos alimentares em pó (KONDO et al., 2011). A fruta *Cranberry* por si só é muito ácida, por este motivo quando manipulado para consumo é preciso ser adoçado a fim de melhorar o seu sabor, (DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011). Consequentemente, a *Cranberry* em forma de suco não pode ser utilizado em pesquisas para avaliar a prevenção na cárie dentária, ou a prevenção na erosão dentária (WEISS et al., 2004).

Algumas pesquisas no ramo da odontologia, sobre a cárie dentária e doença periodontal, apresentaram benefícios relacionados aos polifenóis do suco de *Cranberry* (Vacciniummacrocarpon) ou extraídos da própria fruta tem sido cientificamente verificados(KONDO et al., 2011),

A presença de proantocianidinas (PAC) em extratos de suco de *Cranberry* tem sido associada a atividades biológicas contra atributos de virulência específicos de Streptococcusmutans, na inibição da atividade de glicosiltransferase (GTF)(KOO et al., 2010). O objetivo deste estudo foi determinar a influência de uma fração de *Cranberry* PAC altamente purificada e químicamente definida em S. mutans,

formação de biofilmes na superfície de hidroxiapatita revestida de saliva, e no desenvolvimento de cárie dentária em ratos Sprague-Dawley(KOO et al., 2010). As aplicações tópicas (60 segundos de exposição, duas vezes por dia) com PAC (1,5 mg / ml) durante a formação do biofilme resultaram em menos biofilme e menos polissacáridos insolúveis que os biofilmes tratados com o controle (10% de etanol, v/v, p <0,05). A incidência de cáries de superfície lisa em ratos foi significativamente reduzida pelo tratamento do PAC (duas vezes por dia), e resultou em lesões de cárie menos severas em relação ao grupo controle (p <0,05).Os animais tratados com PAC também mostraram significativamente menor gravidade em relação a cárie em superfícies (sulcos) (p <0,05). Além disso, um tipo específico de APA oligômeros (dímeros; dodecamers a 0,1 mg/mL) reduziu efetivamente a síntese de glucanos insolúveis por gtfB adsorvida sobre uma superfície de hidroxiapatite revestido de saliva, e também foi afetada por glicolise bacteriana. Os dados mostram que o suco de *Cranberry* PAC reduziu a formação de biofilmes por S. mutans*in vitro* e o desenvolvimento de cáries dentárias, in vivo, o que pode ser atribuído à presença de dímeros bioativos do tipo A e oligômeros específicos(KOO et al., 2010).

Bodet; Chandad; Grenier(2007)relataram que baixas concentrações do extrato de *Cranberry*podem inibir a secreção das MMP-3 e MMP-9 pelos fibroblastos e macrófagos após estímulo dos agentes responsáveis por problemas periodontais. La, Howell; Grenier (2009) verificaram que a *Cranberry* foi capaz de inibir a produção de algumas MMPs em periodonto inflamado e a atividade catalítica das MMP-1 e MMP-9 foi também inibida nestas condições.

Bonifait; Grenier (2010) evidenciaram cientificamente que ao longo da última década, *Cranberry* e seus componentes moleculares têm recebido cada vez mais atenção dos pesquisadores em saúde humana. Em particular, a propriedade de

polifenóis com alto peso molecular isolada a partir de suco de *Cranberry* tem mostrado potenciais como agentes anti cárie inibindo a produção de ácidos orgânicos e a formação de biofilmes por bactérias cariogênicas, Além disso, os polifenóis de *Cranberry* podem reduzir a resposta inflamatória, bem como a produção e atividade de enzimas proteolíticas que contribui para a destruição da matriz extracelular na doença periodontal. Os polifenóis de *Cranberry* também interferem em várias atividades (incluindo a formação de biofilme e adesão) de Porphyromonasgingivalis, o principal agente etiológico na periodontite crônica (BONIFAIT; GRENIER, 2010).

A *Cranberry*, um tipo de proantocianidinas (PACs) foram também reconhecidos por sua atividade inibitória contra a adesão bacteriana e infecções derivadas do biofilme, No entanto, a identificação precisa das classes específicas de graus de polimerização (DP) da bioatividade do PACs continua a ser um grande desafio devido à química complexa destes flavonóides, Feng et al,(2013) realizaram um estudo com o objetivo de demonstrar quimicamente sucos de *Cranberry* utilizados em uma técnica de separação de passos múltiplos e estrutura-determinação para isolar oligômeros PAC um tipo definido de DP. As influências de PACs na arquitetura 3D de biofilmes e respostas aos Streptococcusmutans dentro de biofilmes foram investigados. Foram utilizados regimes de tratamento que simulavam modelo de biofilme (duas vezes ao dia, 60 de cada).Genes (RMPC, MEPA, sdc BB e GBPC) associados com a ligação de sacarose dependente de bactérias foram reprimidos pelos PACs, PACs de DP 4 e, particularmente,DP 8-13 foram os mais eficazes na interrupção da adesão bacteriana à superfície apaticoglucana revestido (> 85% de inibição VS controle), e da expressão do gene. Este estudo identificou possíveis alvos moleculares de um tipo de *Cranberry* em S.

mutans, enquanto demonstravam que o PAC oligômeros com um DP específico podem ser eficazes em interromper a formação de biofilmes cariogênicos (FENG et al., 2013).

Weiss et al. (2004), relataram que investigações anteriores demonstraram que o suco de *Cranberry* inibe a adesão de um número de espécies bacterianas e impede a co-agregação de muitos pares de bactérias orais. Foi realizado o uso diário de enxaguatório bucal contenda *Cranberry* por 6 semanas, o grupo experimental era composto por total de 29 voluntários, foi realizada a contagem dos estreptococos mutanssalivares.Pode-se perceber que na contagem total bacteriana houve uma redução significativa, em comparação com os do controle, que eram um total de 30 voluntários utilizando um bochecho com placebo. Nenhuma alteração na placa eíndices gengivais foi observada *In vitro.*O componente de suco de *Cranberry* inibiu a adesão de Streptococcussobrinus à saliva revestida pela hidroxiapatita. Os dados sugerem que a capacidade para reduzir níveis de estreptococos mutans*in vivo* deve-se à atividade de anti-aderência do constituinte *Cranberry* (WEISS et al., 2004).

Nota-se por esta revisão de literatura que apesar da crescente preocupação pela erosão dentária e sua busca por soluções, há necessidade de exploração e aprofundamento sobre os agentes terapêuticos como é o caso da *Cranberry* agindo como inibidor de Metaloproteinase prevenindo a erosão dentária, assim como os componentes desta fruta tem obtido sucesso em pesquisas nos ramos da odontologia: como a periodontia e cariologia sem esquecer-se de citar na área da medicina que da qual os resultados tem se apresentado satisfatório.

3 Proposição

Este estudo se propôs por meio da perfilometria e porcentagem de perda de dureza superficial avaliar *in situ* o efeito de um gel à base de *Cranberry* sobre a dentina submetida à erosão dentária causada por uma bebida ácida.

Para este fim, foram elaboradas as seguintes hipóteses nulas:

- Não existe diferença entre os 4 grupos avaliados na minimização dos efeitos erosivos provocados por uma bebida ácida com relação à perfilometria.
- Não existe diferença entre os 4 grupos avaliados na minimização dos efeitos erosivos provocados por uma bebida ácida com relação à porcentagem de perda de microdureza superficial.

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-USP, número de protocolo: 138.243/2012 recebendo o parecer aprovado (Anexo 1).

4.2 Delineamento experimental

Este estudo *in situ* tipo cruzado e duplo-cego envolveu um desenho aleatorizado em blocos (voluntário), sendo realizado em dois períodos de 5 dias, durante os quais10 voluntários utilizaram um dispositivo intrabucal palatino contendo 4 espécimes de dentina. Foi estudado o efeito do gel de *Cranberry* aplicado sobre a dentina (grupo experimental) comparado com os dois grupos considerados controles negativos (placebo e sem gel)e 1 controlepositivo (Clorexidina).Deste modo, foi avaliado neste estudo um único fator de estudo (fator grupo) dividido em quatro níveis (G1- Sem gel, G2- *Cranberry*, G3- Placebo e G4- Clorexidina). Um total de 80 fragmentos de dentina radicular bovina, após um ordenamento planejado conforme a dureza, foram aleatoriamente divididos entre 10 voluntários e entre 4 grupos de estudo. Desta forma para cada grupo foram utilizados 20 fragmentos de dentina bovina. Nos 2 períodos experimentais, foram testados os 4 grupos distribuídos da seguinte forma:

Primeira Fase (5 dias):

- **G1 -** Ação da bebida ácida (Coca-cola®) sobre a dentina bovina sem nenhum tipo de tratamento prévio **(Controle Negativo 1)**.
- **G2 -**Ação da bebida ácida (Coca-cola®) sobre a dentina bovina tratada previamente com gel de aplicação tópica à base de *Cranberry***(Grupo Teste)**.

Segunda Fase (5 dias):

- **G3 -** Ação da bebida ácida (Coca-cola®) sobre a dentina bovina tratada previamente com gel de aplicação tópica sem nenhum princípio ativo **(Controle Negativo 2; placebo)**.
- **G4 -**Ação da bebida ácida (Coca-cola®) sobre a dentina bovinatratada previamente com gel de Clorexidina**(Controle Positivo)**.

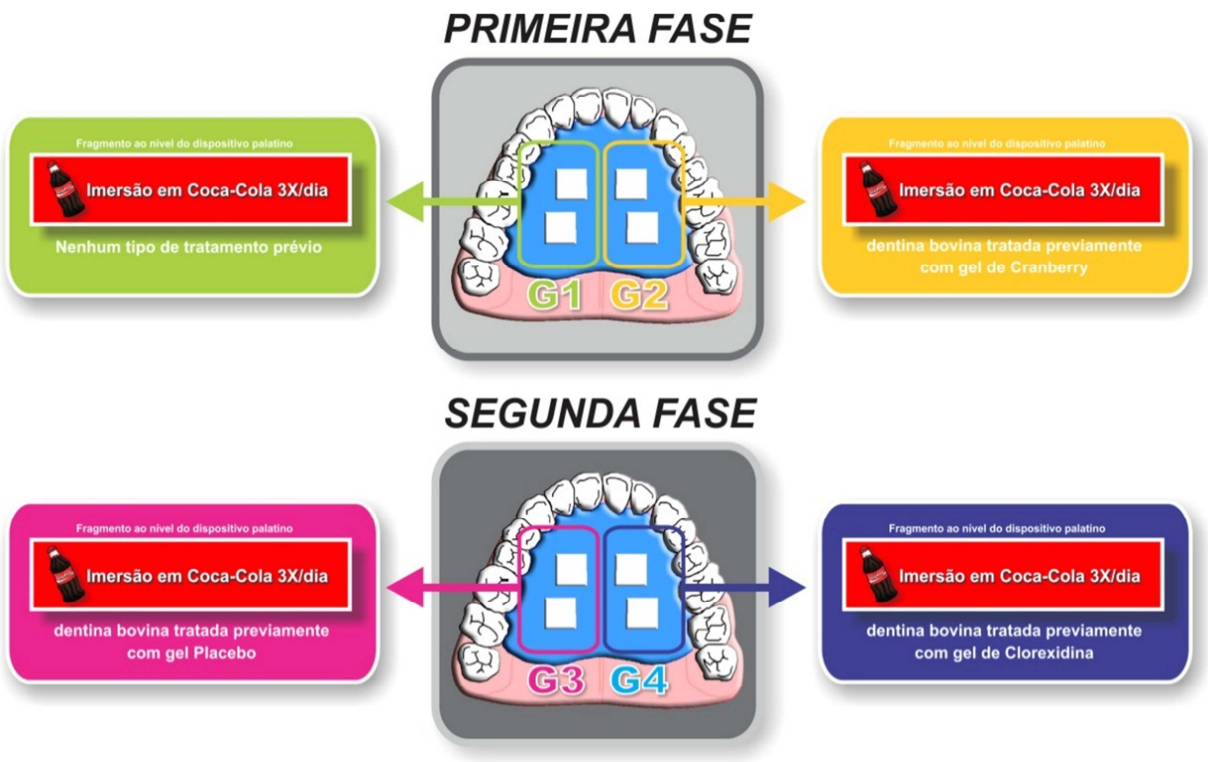

Figura 1- Grupos experimentais do estudo

O estudo foi do tipo cruzado, pois nos primeiros 5 dias da etapa *in situ* deste experimento, metade dos voluntários (5) utilizaram o dispositivo palatino da primeira fase e a outra metade o dispositivo da segunda fase. Após um intervalo (*washout*) de 7 dias, os voluntários utilizaram o aparelho da fase oposta.

Após o período experimental *in situ*, o fragmento dentário foi analisado (Figura 2). A análise quantitativa do desgaste dos fragmentos foi realizada por meio de testes de microdureza e perfilometria, desta forma as variáveis de resposta foram porcentagem de perda de dureza superficial e perfil de desgaste. A referência de dentina hígida, cuja medida foi necessária para realização desta análise, apresentou - se no próprio espécime, pois todos os blocos de dentina apresentaram dois terços de suas superfícies protegidas por esmalte cosmético.

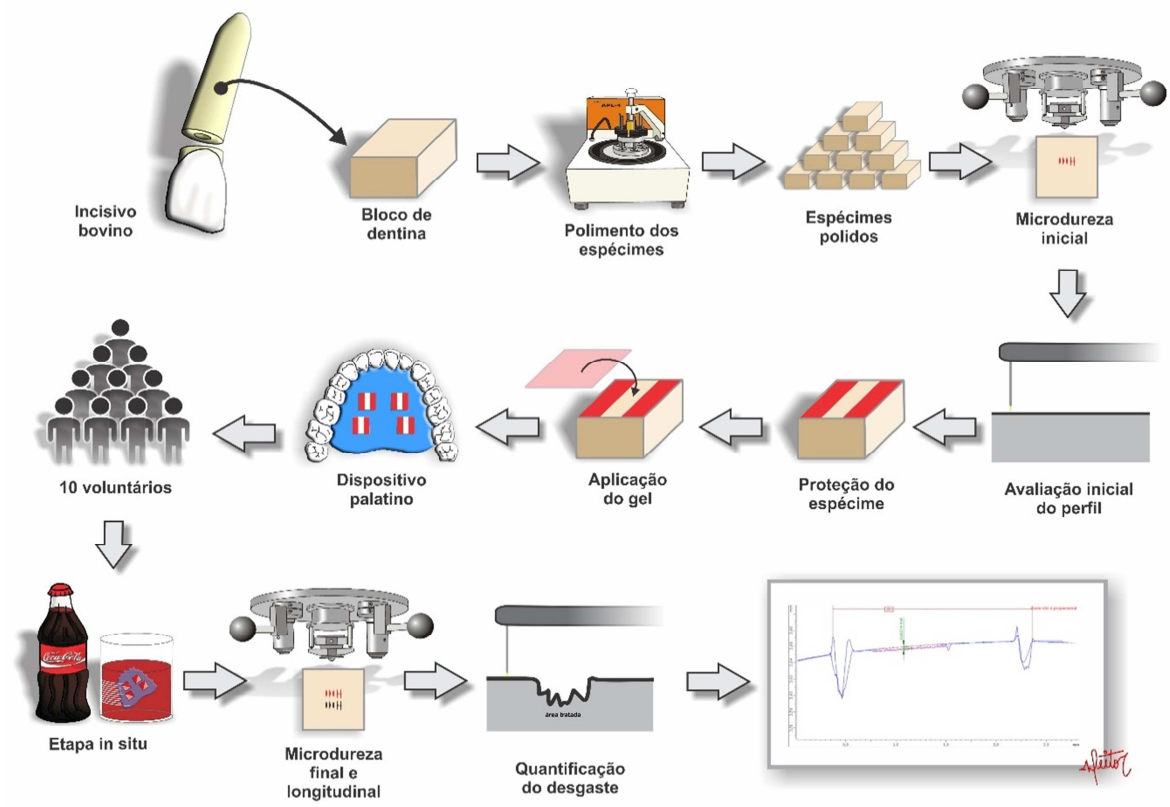

Figura 2- Fluxograma ilustrando o delineamento experimental do trabalho

4.3 Preparo dos espécimes de dentina

Aproximadamente 200 dentes incisivos bovinos extraídos de gado da raça Nelore com idade média de 36 meses, abatidos para consumo no Frigorífico VangélioMondelli Ltda., em Bauru, SP, foram utilizados no presente estudo. Os incisivos foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e, posteriormente, armazenados em solução de cloreto de sódio e timol a 0,1% (pH 7,0). Os dentes ficaram imersos durante todo o período de preparo dos espécimes de dentina.

Em função da grande dificuldade de se trabalhar e obter dentes humanos para este tipo de estudo, o substrato bovino tem sido largamente utilizado em estudos sobre erosão dentária (FRANCISCONI et al., 2008; HONORIO et al., 2008; HONORIO et al., 2010; KATO et al., 2009, 2011; RIOS et al., 2006; VIEIRA et al., 2006). Alguns trabalhos caracterizaram similaridades entre dentes humanos e bovinos quanto à sua morfologia (FONSECA et al., 2008; REIS et al., 2004; SCHILKE et al., 2000), fisiologia (SCHMALZ et al., 2001) e estrutura mecânica (HARA; LUSSI; ZERO. 2006; WEGEHAUPT et al., 2008).Outros estudos já utilizaram espécimes de dentina bovina em pesquisas sobre erosão dentária (KATO et al., 2009, 2010), e Kato et al, (2011) afirmam que este substrato é bastante confiável para estudos envolvendo erosão dentinária e a atividade de metaloproteinases. Assim, face à sua facilidade de obtenção, diminuição dos trâmites burocráticos e éticos inerentes aos espécimes humanos, além de uma maior área de superfície para trabalho, a dentina bovina foi o substrato de eleição para este estudo.

Desta forma, primeiramente foram removidas as raízes dos incisivos bovinos, com o auxílio de um torno para polimento odontológico adaptado para corte (Fábrica Nacional de Motores Monofásicos Nevoni / Série 16,223, Tipo: TG1/3, São Paulo, SP) e um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Indústria e Comércio Ltda,, Petrópolis, RJ), sendo feita uma secção na porção cervical dos dentes.

Em seguida as raízes foram fixadas com godivatermoativada (Kerr Corporation, USA) no canto inferior direito de uma pequena placa de acrílico cristal (40 X 40 X 5 mm) para facilitar a adaptação na máquina de corte (Figura 3). A placa de acrílico foi acoplada em um aparelho de corte de precisão ISOMET LowSpeedSaw (BulherLtda,, Lake Bluff, IL, USA) e com o auxílio de dois discos diamantados dupla face (XLI 2205, “hightconcentration”, 102 X 0,3 X 12, 7 mm; ExtecCorp, Enfield, CT, USA / Ref: 12,205) e um espaçador de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos, com velocidade de 300 rpm, refrigerado com água deionizada, colocados em um ângulo de 90° em relação ao longo eixo do dente, no sentido mésio-distal, foram obtidas rodelas de raiz, Em seguida com dois discos diamantados dupla face (XLI 2205, “hightconcentration”, 102 X 0,3 X 12, 7 mm; ExtecCorp,Enfield, CT, USA / Ref: 12,205) e o espaçador de 4 mm, foi realizado um corte da rodela no sentido vestíbulo-lingual, resultando em dois espécimes de dentina de 4 X 4 mm.

Figura 3- Máquina de corte

4.4 Planificação e polimento dos espécimes de dentina

Os blocos de dentina foram submetidos a uma planificação. Para tal, foram fixados com cera pegajosa em discos de acrílico de 30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura, com a superfície de dentina externa (coberta por cemento) voltada para baixo. A dentina foi planificada em uma PolitrizMetalográfica (Figura 4) com um sistema múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova (APL 4, Arotec, Cotia, SP) com o uso de uma lixa de carbeto de silício de granulação 320 (Extec, Corp,), em baixa velocidade, durante período de 10-30s, dependendo da espessura do bloco.

Em seguida, os blocos foram retirados das placas acrílicas e estas foram limpas com xilol (Pharmácia Específica manipulação de fórmulas, Bauru - SP), para remover resíduos de cera, Os blocos foram novamente fixados, mas com a superfície do cemento e dentina externa expostos (para cima). Utilizaram - se lixas de carbeto de silício de granulação 600 (30 s – 60 s) e 1200 (1 min – 2 min) (Extec, Corp,) em alta velocidade até a remoção do cemento e obtenção de uma superfície

de dentina com aspecto vítreo. Entre as trocas de lixas, os discos contendo os blocos foram lavados em ultra-som T7 Thornton (UniqueInd, e Com, de produtos Eletrônicos Ltda., São Paulo, SP), durante 2 minutos, com água deionizada (200mL), a fim de impedir interferência dos grãos na lisura do tecido.

Para o polimento final, utilizaram - se um pano de feltro (Extec, Corp,) umedecido em solução de diamante de 1µm (Buehler), durante 2 minutos, Após o último polimento, os blocos retornaram ao ultra-som, durante 10 minutos.

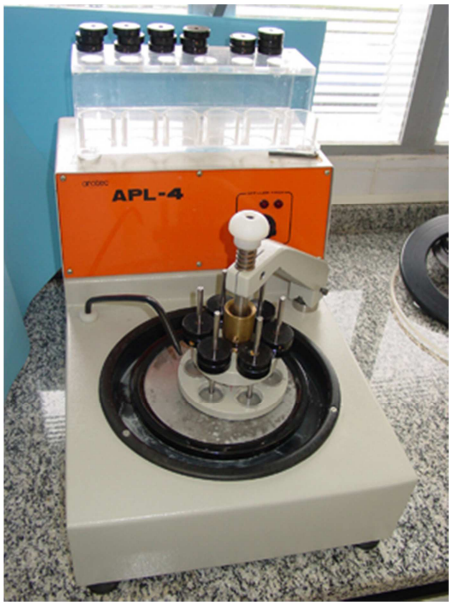

Figura 4- Politrizmetalográfica

4.5 Avaliação da microdureza superficial inicial e seleção dos espécimes de dentina

A microdureza superficial inicial da dentina foi avaliada utilizando-se um microdurômetro (HMV-2000/ Shimadzu Corporation Japan) acoplado a um microcomputador e um software específico (Cams – Win – New Age Industries/ USA) para a análise das imagens (Figura 5). Foi utilizado um penetrador diamantado

piramidal tipo KNOOP, com carga estática de 15 g, aplicada por 10 segundos (Figura 6). Em cada corpo de prova foram realizadas 5 endentações aleatoriamente, englobando diferentes áreas da superfície com mais de 1000 µm da lateral do bloco(Figura 7). Para medir as endentações realizadas, duas marcas pontilhadas que aparecem na tela do computador se sobreporam aos vértices agudos do losango correspondente à endentação, determinando o comprimento da maior diagonal e, conseqüentemente, os resultados da dureza KNOOP através do cálculo automático feito pelo software da seguinte equação:

$$KHN = \frac{C.c}{d^2}$$

Sendo: KHN= valor de dureza Knoop

C (constante)= 14,230

c = 15 gramas

d= comprimento da maior diagonal da endentação,

Foram desprezados os fragmentos com valor médio de microdureza 10% acima ou 10% abaixo da média de todos os fragmentos. Além disso, fragmentos com manchas brancas visívieis a olho nú e contendo rachaduras também foram excluídos. Ao final, foram selecionados 96 espécimes para o estudo.

Figura-5: Microdurômetro aclopado ao computador

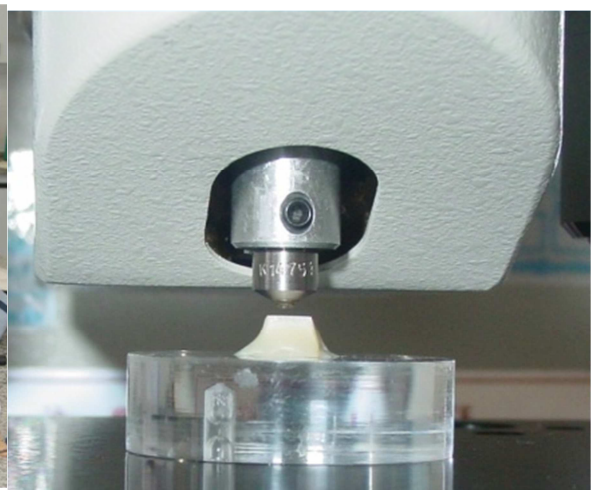

Figura-6: Ponta penetradora tipo Knoop

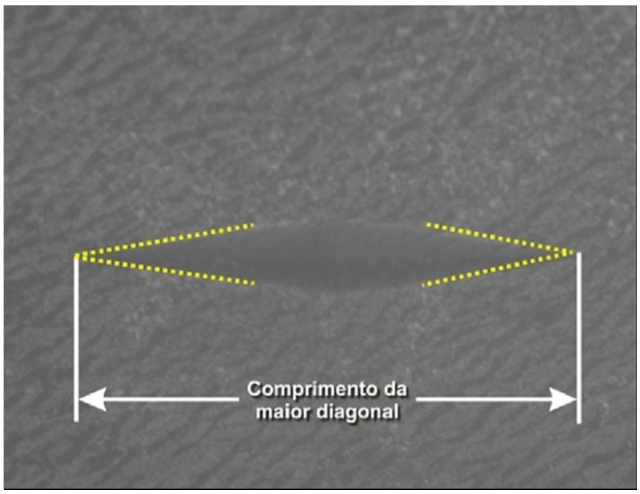

Figura-7: Imagem em maior aumento da endentação feita para avaliação de microdureza

4.6 Avaliação do desgaste inicial

Antes das leituras de desgaste, foram realizadas duas marcações com a lâmina de bisturi, a fim de delimitar as áreas de controle e área a ser testada. Para este procedimento, foi confeccionado um guia de resina composta, sobre uma matriz bipartida, com as dimensões de: 2mm de largura; 1,5 mm de altura e 2,5 cm de comprimento. Este guia foi colocado ao centro de cada espécime e foi realizada a marcação. Contudo, obtiveram-se áreas de controle nas extremidades do espécime,

onde cada uma media 1mm, e ao centro encontrava-se a área a ser exposta com 2mm de diâmetro (ALENCAR, 2013).

Para a avaliação do desgaste inicial da dentina, foi utilizado o perfilômetro da marca Mahr (Marsurf GD 25, Göttingen, Germany) acoplado à um microcomputador, onde foi utilizado o software (marsurf XCR 20) para avaliação das imagens (Figura 8).

Para tal, uma ponta apalpadora esférica, que percorreu a superfície, acoplada a uma unidade que tem como função processar e interagir as informações quantitativamente, fornecendo os resultados (Figura 9). Para cada espécime foi realizado um total de cinco leituras, a ponta apalpadora percorria 3mm em todas as leituras realizadas no espécime, a distância de uma leitura a outra foi preconizada 250 µm.

Um pequeno dispositivo de aço inox foi utilizado para a adaptação do espécime no perfilômetro, além da adaptação este dispositivo serviu para que na leitura inicial e final o espécime ficasse na mesma posição também era anotada as marcações dos eixos X e Y, e por fim, era realizada uma pequena marcação no canto superior esquerdo do espécime.

Figura-8: Perfilômetro acoplado ao computador

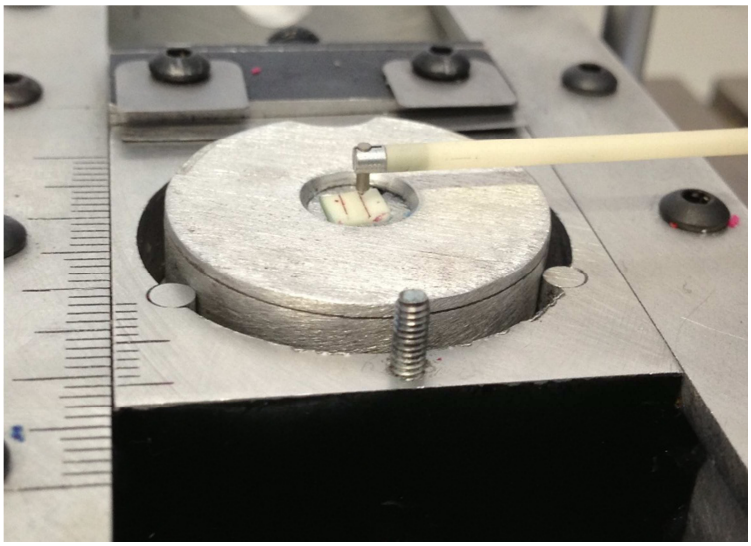

Figura-9: Ponta apalpadora e dispositivo adaptador do espécime

4.7 Preparação dos géis

Os géis foram preparados em Farmácia de manipulação e todos tiveram a mesma composição (hidrocelulose, propilenoglicol, metilparabeno, imidazolidiniluréia e água deionizada) exceto pela presença do princípio ativo respectivo de cada grupo (Figura 10). O extrato de *Cranberry* utilizado para a confecção do gel do grupo

experimental, foi gentilmente cedido pela Profa. Dra. AnuradhaPrakki da Universidade de Toronto- Canadá.

Como citado no início deste capítulo, houve quatro tipos de géis:

1. Sem nenhum tratamento prévio,
2. Com princípio ativa *Cranberry*à 0,05%,
3. Sem nenhum princípio ativo,
4. Com princípio ativo Clorexidinaà 0,012%,

Figura-10: Géis utilizados no experimento

4.8 Proteção dos espécimes

O esmalte cosmético foi utilizado para proteger as laterais dos fragmentos necessárias para realização dos testes de perfilometria. Uma fita adesiva foi posicionada no centro da superfície do espécime, promovendo a proteção de uma porção e expondo a área a ser pintada (Figura- 11).

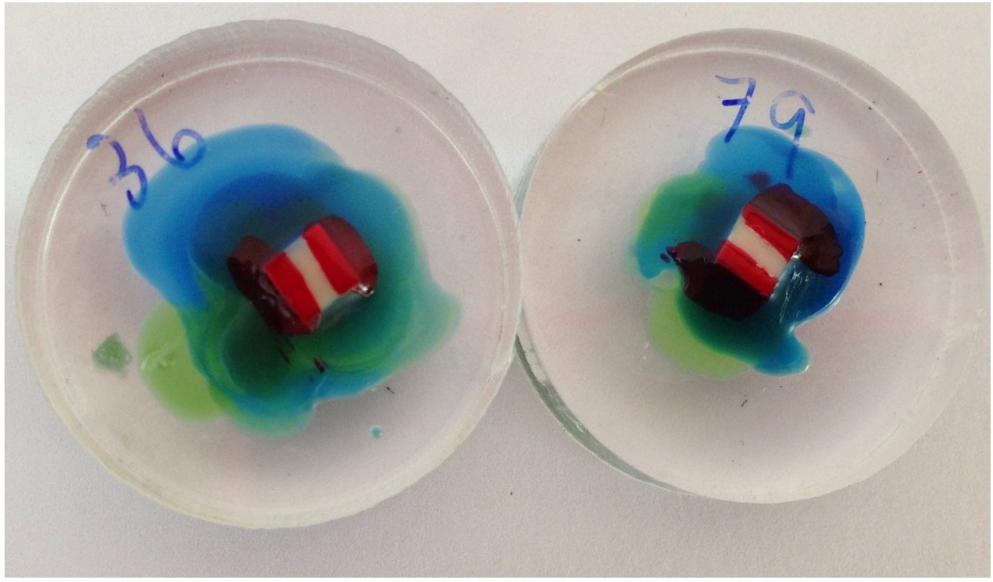

Figura-11: Proteção dos espécimes

4.9 Seleção dos voluntários

O cálculo inicial da amostra feito com base em dados de um estudo piloto, indicou a necessidade de 9 voluntários para a realização deste trabalho, adotando-se um erro α de 5%, erro β de 20%, desvio padrão 1,145 µm e diferença mínima detectada entre as médias de 2 µm (Cálculos feitos utilizando-se o desgaste como variável de resposta). Contudo, apesar do cálculo inicial e dado ao frequente número de desistências que envolvem este tipo de estudo, buscou-se selecionar um número maior de sujeitos para esta pesquisa. Face à dificuldade em se conseguir voluntários para se submeterem a este tipo de estudo, este trabalho foi iniciado com 12 sujeitos da pesquisa. Contudo, após duas desistências, ao final, esta pesquisa foi conduzida com 10 voluntários adultos (todos do gênero feminino entre 20 e 26 anos de idade). Os critérios de exclusão considerados na anamnese para composição da amostra foram: hábito de fumar; apresentar lesões de cárie ativa no estágio de cavitação; apresentar desgaste dentário acentuado; ter recebido aplicação tópica de flúor gel

pelo menos duas semanas antes do estudo; ter utilizado nos últimos2 meses ou utilizar medicamentos que afetam o fluxo salivar (antidepressivos, narcóticos, diuréticos ou anti-histamínicos); ter sofrido irradiação ou quimioterapia; ter atividades aquáticas (cloro presente em piscinas proporcionam ao indivíduo contato com água de baixo pH) ou trabalhar em ambientes poluídos por compostos de baixo pH (Fábricas de baterias); apresentar doenças sistêmicas tais como as auto-imunes, xerostomia, menopausa, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastro-esofágicos e distúrbios de regurgitação e vômito; apresentar fluxo salivar estimulado menor que 1 mL/min e não estimulado menor que 0,1 mL/min. Os voluntários selecionados para este estudo foram alunos de graduação e pós-graduação do curso de Odontologia com a tentativa de proporcionar um maior comprometimento por parte dos voluntários.

4.10 Preparo do dispositivo intrabucal palatino

Moldes do arco superior dos voluntários foram obtidos com alginato e vazados em gesso pedra. Dispositivos intrabucais palatinos foram confeccionados em resina acrílica. Cada dispositivo continha 2 fileiras verticais consecutivas, uma no lado direito e outra no esquerdo, com 2 cavidades de 5 x 5 x 3 mm, sendo que cada uma delas serviu para fixação de 1 espécime, com cera pegajosa (Figura-12).

Primeiramente foi feita uma seleção planejada dos espécimes conforme os valores de microdureza iniciais de forma que, em todos os grupos e voluntários houve espécimes com microdureza mais baixa e mais alta, Posteriormente houve uma distribuição aleatória, utilizando-se o programa Microsoft Excel.

Os espécimes foram fixados ao nível da superfície de resina do aparelho, evitando-se fendas laterais entre os fragmentos e as cavidades que possibilitariam o indesejável acúmulo de biofilme dentário.

Figura-12: Dispositivo Palatino

4.11 Kits entregue aos voluntários

Os voluntários receberam um kit para o desenvolvimento da pesquisa. Este kit continha basicamente uma maleta para o transporte dos materiais, um copo americano, dez garrafas do produto Coca-Cola® 600 mL, um creme dental (Colgate®), uma escova de dente (Colgate®), gaze, uma caixinha para o armazenamento do aparelho palatino e um guia com orientações para os voluntários (Anexo 2), caso houvesse dúvidas. (Figura-13).

Figura-13: Kit para os voluntários

4.12 Tratamento e Procedimentos intrabucais

Os voluntários utilizaram o dispositivo intrabucal em 2 períodos experimentais de 5 dias. Durante a fase experimental o aparelho foi instalado um dia antes de seu início, à noite, após a última higiene, para permitir a formação da película adquirida.

Os géis foram aplicados apenas pelo pesquisador responsável e uma única vez (pela manhã) antes que os voluntários iniciassem a etapa *in situ*. Os géis foram aplicados sobre os fragmentos por meio de uma fina camada utilizando-se um *microbrush* durante 5 minutos. A seguir, foram cuidadosamente removidos com cotonete. Os voluntários foram instruídos a iniciarem os desafios erosivos somente após 2 horas da aplicação dos géis.

Os voluntários foram orientados a utilizar o dispositivo intrabucal continuamente (24 h/dia) exceto durante as refeições (3 refeições diárias de 1h), sendo que nestes períodos os dispositivos foram mantidos no estojo plástico, envolto em gaze umedecida em água de abastecimento (Bauru – 0,7 ppm F). Foi permitido aos voluntários realizar a higiene bucal normalmente, após as refeições, sem o dispositivo. Os voluntários também foram orientados a não ingerirem bebidas, exceto água, durante o experimento, a não ser nos horários das refeições quando não estiveram utilizando o dispositivo.

Durante o período experimental todo o aparelho foi imerso três vezes ao dia, 30 minutos após cada refeição, por 5 minutos, em um copo contendo 200 mL da bebida em estudo. A cada dia, foi utilizada uma nova garrafa de 600 mL. O refrigerante foi mantido em temperatura ambiente.

Não foi exigido dos voluntários o seguimento exato destes períodos, foi permitida uma variação, desde que fossem feitas as 3 imersões diárias e que, após a imersão no refrigerante, os indivíduos permaneçam com o aparelho na cavidade bucal por no mínimo 2 horas antes da nova imersão.

Após a finalização de cada período os aparelhos foram identificados e o esmalte de unha cosmético, responsável pela proteção de metade da área dos fragmentos, foi retirado.

4.13 Análise da microdureza superficial final

Ao final do experimento, foi avaliada a microdureza superficial dos espécimes utilizando o mesmo microdurômetro com as mesmas especificações (15g por 10s).

Na área exposta à ação erosiva foram realizadas 5 endentações, com distância aleatória entre elas, englobando toda sua superfície e o mesmo foi feito na superfície que esteve protegida durante o experimento. A média das endentações (microdureza final) foi utilizada para avaliar a porcentagem de perda de microdureza de superfície (%PDS) de acordo com a seguinte fórmula:

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

4.14 Avaliação do desgaste final

O perfil traçado pelo perfilômetro percorreu a superfície dos espécimes passando por áreas de superfície hígida (protegida) e afetado, e como o espécime polido não tratado (protegido – área de referência) se assemelha muito a uma linha reta, foi fácil a identificação da região submetida aos grupos experimentais (Figura 14).

Assim sendo, após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrometros entre a linha média do gráfico correspondente á área protegida do espécime (superfície de referência) e o vale máximo de desgaste (Figura 15), Para cada espécime foram feitas cinco medições em diferentes áreas da interface entre material íntegro e desgastado.

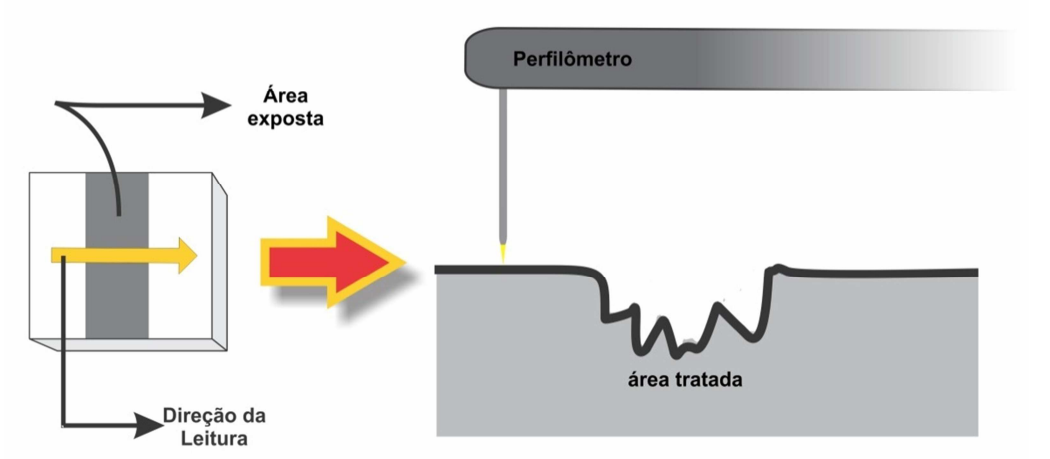

Figura 14- Ilustração esquemática mostrando a quantificação do desgaste pelo perfilômetro

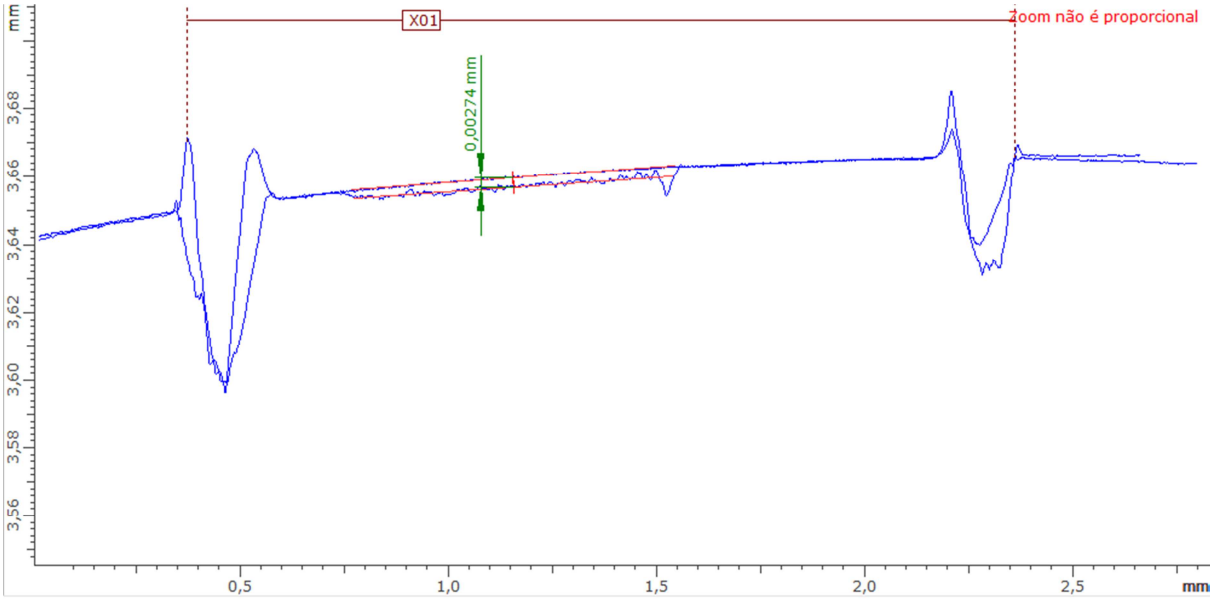

Figura 15- Desgaste dos espécimes testados ocasionado pela erosão

Assim sendo, após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrometros entre a linha média do gráfico correspondente á área protegida do espécime (superfície de referência) e a média dos vales de desgaste. Para cada espécime foram feitas cinco medições em diferentes áreas da interface entre dentina hígida e desgastada.

4.15 Análise estatística

Os dados foram submetidos à Análise de Variância de medidas repetidas seguido do teste de Fisher ($p<0,05$), para as duas variáveis de resposta testadas (Desgaste e Microdureza superficial). Para a realização destas análises estatísticas, foi utilizado o programa STATISTICA data analysis software system 11,0 (Stat Soft Inc.).

5 Resultados

5.1 Análise da dureza

A comparação dos valores de porcentagem de perda de microdureza por meio da análise de variância de medidas repetidas demonstrou não haver diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. A Figura 16 e a Tabela 1 mostram os valores de %PDS dos diferentes grupos avaliados.

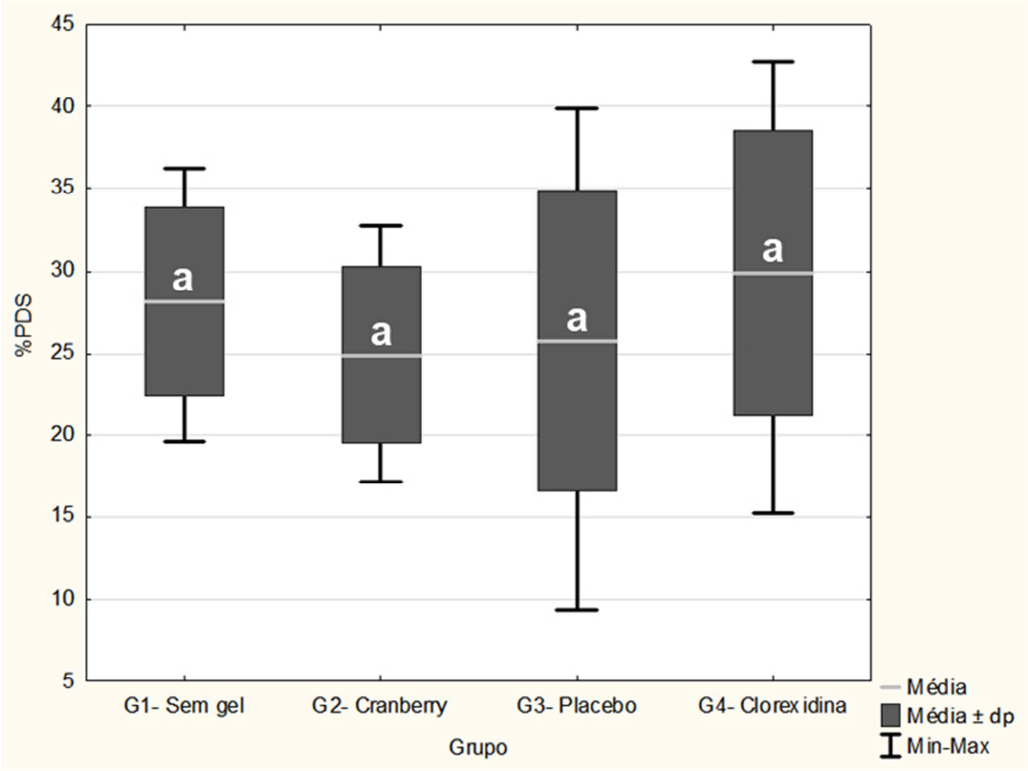

Figura16 -Porcentagem de Perda de Dureza Superficial (%PDS) dos 4 grupos avaliados.
* Letras iguais indicam ausência de diferença na comparação entre os grupos

Tabela 1–Valores de Porcentagem de Perda de Dureza Superficial (%PDS) dos 4 grupos avaliados.

Voluntário	G1-Sem gel	G2-*Cranberry*	G3-Placebo	G4-Clorexidina
1	29,95	18,85	22,18	15,21
2	24,68	17,16	9,36	22,00
3	26,50	21,98	32,58	32,62
4	19,68	30,54	39,86	39,61
5	36,20	25,87	16,88	30,19
6	32,00	30,77	35,23	38,15
7	27,10	19,97	22,44	25,24
8	35,45	32,72	24,10	28,47
9	29,77	26,76	22,96	24,07
10	19,93	24,63	31,79	42,78
Total (média ± dp)	**28,12% ± 5,71**	**24,92% ± 5,38**	**25,74% ± 9,15**	**29,83% ± 8,63**

5.2 Análise de desgaste

O teste de Análise de Variância de medidas repetidas mostrou haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação ao desgaste. Assim, o teste de Fisher permitiu verificar que não houve diferença estatisticamente significantes de desgaste entre os grupos Placebo e Controle (sem gel), também não houve uma diferença entre os grupos Clorexidina e *Cranberry*. Porém, os grupos Clorexidina e *Cranberry* apresentaram menores valores de desgaste em relação aos grupos Placebo e Controle (sem gel), sendo esta diferença estatisticamente significativa. A Figura 17e a Tabela 2 apresentam estes dados.

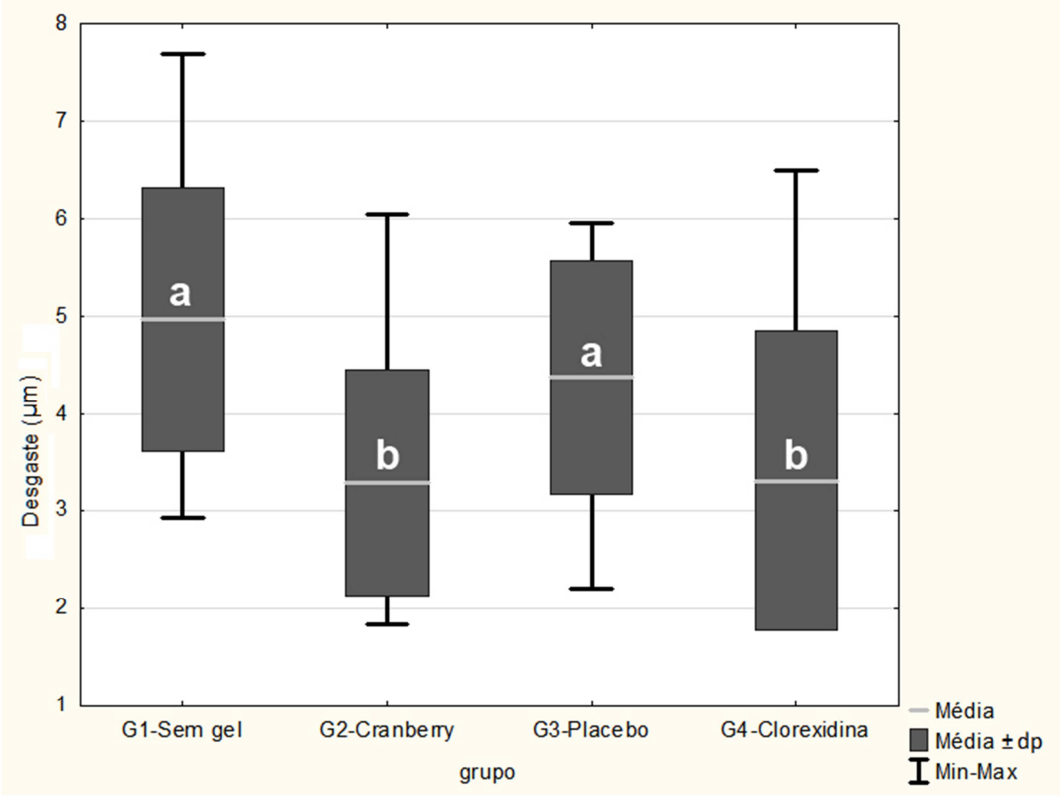

Figura 17 -Desgaste (µm) dos 4 grupos avaliados.
* Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos

Tabela 2 – Valores de Desgaste (µm) dos 4 grupos avaliados.

Voluntário	G1-Sem gel	G2-*Cranberry*	G3-Placebo	G4-Clorexidina
1	5,24	2,82	3,91	3,84
2	2,93	2,74	2,22	2,87
3	7,69	6,04	5,58	5,60
4	4,45	3,99	4,46	6,52
5	5,57	1,82	2,70	2,25
6	3,64	2,24	5,33	2,27
7	6,07	3,39	4,91	2,98
8	5,06	2,99	5,95	2,36
9	3,87	3,15	4,32	2,26
10	5,24	3,75	4,45	2,21
Total (média ± dp)	**4,98 µm ± 1,36**	**3,29 µm ± 1,16**	**4,38 µm ± 1,19**	**3,32 µm ± 1,55**

6 Discussão

O presente estudo avaliou *in situ* a capacidade de inibição de MMP na erosão dentária mais especificamente em dentina, utilizando géis com dois princípios ativos (Clorexidina e *Cranberry*).

Neste trabalho, foi preconizado estudo *in situ* por este modelo envolver o uso de dispositivos intrabucais, os quais criam condições semelhantes da cavidade bucal humana, servindo de ponte entre a situação clínica natural sem grande controle dos vieses inerentes a este tipo de estudo e a situação laboratorial altamente controlada (ZERO, 1995; HONORIO, 2006).

Os estudos *in situ,* apresentam vantagens que devem ser levadas em consideração, como a possibilidade de se realizar o estudo na cavidade bucal humana, ao contrário dos estudos *in vitro* ou daqueles realizados em animais, permitindo um controle das variáveis experimentais e a flexibilidade do desenho experimental, diferente das possibilidades que os trabalhos clínicos nos oferecem. É possível aumentar a sensibilidade e a validade científica da metodologia, interagindo várias técnicas de avaliação das ciências básicas. Porém há desvantagens, que devem ser consideradas,e não devem ser levadas como fatores que tornem este tipo de estudo inviável ou queo desfavoreça, estas desvantagens podem ser: a limitação do número de participantes devido à própria natureza do estudo *in situ,* a dependênciada colaboração dos participantes, este estudo necessita de uma condução de trabalho muito cautelosa e exigente(HONORIO, 2006; ZERO, 1995).

Já os modelos de estudos *in vitro* são importantes para avaliar as interações químicas que acometem na erosão dentária (HONORIO, 2006; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; BARBOUR et al., 2003; BRUNTON; HUSSAIN, 2001; HUGHES et al., 2000; JOANSSON et al., 2001; LARSEN; NYVAD, 1999),

porém este tipo de estudo não é capaz de apresentar os vários fatores que atuam na cavidade bucal, como por exemplo, a saliva e a película adquirida.

Em 1999, HALL et al. (1999) concluíram que os estudos *in situ* sobre erosão dentária apresentam diferentes resultados quando comparados ao *in vitro.*Foram realizados com uma mesma bebida desafios erosivos em um mesmo intervalo de tempo.Os espécimes do modelo *in situ* apresentaram umdesgaste menor significativamente quando comparados com os espécimes do modelo *in vitro*.

Existem possibilidades de aplicações de princípios ativos como bochechos, dentifrícios, géis, soluções, entre outros. No caso deste estudo *in situ* foi adotado o método de aplicação em gel, a fim de facilitar a aplicação e padronizar o contato do princípio ativo com a dentina(KATO et al., 2010).Por outro lado, outros métodos usualmente utilizados pelos pacientes também poderiam ser escolhidos para a realização deste estudo, como a solução para bochecho e o dentifrício. Contudo, ao contrário do método escolhido, estes dois últimos não ofereceriam uma perfeita padronização no tempo e intensidade de ação do princípio ativo em contato com a estrutura dentária, uma vez que cada voluntário poderia utilizar estes métodos de maneira diferente, ainda que fossem orientados para fazê-lo de forma padronizada. Diante destas observações a melhor escolha para este estudo foi a aplicação em gel, onde padronizou-se um tempo de 5 minutos que o gel iria ficar em contato com a estrutura da dentina.

A erosão deste estudo foi produzida por uma bebida ácida (Coca-Cola®), por esta ser uma bebida de maior consumo pela população, apresenta também um grande potencial erosivo por essas características e pela facilidade de consumo desta bebida trazendo um maior conforto aos voluntários,que ela foi preconizada para a realização deste estudo.

Em 2000, Sobral et al. (2000) em um dos seus estudos mostraram que as bebidas ácidas como limão e os refrigerantes de Cola e guaraná, possuem o pH respectivamente, 2,5, 2,6 e 3,36 (SOBRAL et al., 2000). A erosão dentária realizada em uma pesquisa*in vitro* por bebidas ácidas em dentes decíduos, concluíram que as bebidas testadas são potencialmente erosivas, sendo que o suco de limão apresentou as maiores perdas de cálcio e fosfato inorgânico, seguido pelo refrigerante tipo cola e pelo guaraná (SOBRAL et al., 2000). Em outro estudo realizado em 2009 por Hanan; Marreiro (2009) pesquisando pH de bebidas como sucos, bebidas lácteas e refrigerantes, relataram que as bebidas lácteas e refrigerantes de Cola apresentam menores valores de pH (HANAN; MARREIRO, 2009).

Leme et al. (2011) compararam os efeitos erosivos em um Scanner de Microscopia eletrônica de bebidas ácidas como refrigerante de limão(Soda limonada®), do suco à base de soja sabor laranja (Ades®), da bebida isotônica sabor tangerina (Gatorade®) e do refrigerante de Cola (Coca-cola®), e chegaram a conclusão de que todas as bebidas possuem um potencial erosivo, porém o refrigerante à base de cola alterou o esmalte de forma mais intensa seguido pelo refrigerante de limão, bebida isotônica e suco à base de soja (LEME et al., 2011).

Os estudos citados acima corroboram e complementam com base na literatura a escolha desta bebida ácida (Coca- cola®) para a promoção da erosão dentária no presente estudo. Além disso, por ser este agente erosivo um produto industrializado, a padronização de composição e pH pode ser melhor controlada e desta forma tal bebida pode levar à menores vieses na análise dos dados.

A erosão foi realizada extra oralmente com imersão na bebida ácida durante 5 minutos, a fim de produzir a desmineralização. É provável que o pH baixo da bebida tenha induzido a ativação de MMPs da dentina e MMP proveniente da saliva. É geralmente considerado, que as MMPs, embora ativadas, não consigam degradar a matriz orgânica de dentina em pHácido.Por esse motivo foram realizadas imersões a cada três horas, para potencializar a degradação da matriz de MMP(KATO et al., 2009), uma vez que a dentina hígida sofre uma ação por uma bebida ácida, o pH cai, e ocorre a desmineralização do componente inorgânico da dentina expondo a trama de fibras colágenas e das MMPs, e é na hora em que o pH está baixo que ocorrem a ativação das MMPs, e quando o pH volta ao seu normal (pH 7,0) é que ocorre a degradação das fibrilas colágenas pelas MMPs (MAGALHAES et al., 2009).

A clorexidina foi escolhida como controle positivo para este estudo devido a sua ampla quantidade de estudos como inibidores de MMPs na erosão dentária em dentina. Outro princípio ativo utilizado nesta dissertação foi a *Cranberry*, pelo fato desta fruta estar sendo muito estudada pela medicina na inibição de MMPs, células cancerígenas, impedimento da adesão de células hospedeiras e inibição de células metabólicas em obesos (HISANO et al.,2012; DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011; NUGGEHALLY, 2013; RUEL et al., 2009; KONDO et al., 2011; DEZIEL et al., 2010).

Um desses exemplos de estudo foi o de Dessíet al. (2011) que em 2011 avaliaram a eficácia da *Cranberry* como tratamento de infecções urinárias em pacientes pediátricos, apresentando um resultado satisfatório em relação aa *Cranberry* nestes pacientes em específicos (DESSÌ; ATZEI; FANOS, 2011).Em 2009, outro estudo avaliou o efeito do suco de *Cranberry*de baixa caloria em homens obesos, Ruel et al.(2009), chegaram a conclusão de que o consumo diário do suco

de *Cranberry* pode diminuir as MMP-9, fazendo com que diminuísse a hipertensão, e a vulnerabilidade à ruptura da placa aterosclerótica favorecendo os efeitos cardioprotetores.

Ainda falando sobre o efeito da *Cranberry* em tratamentos médicos, é importante destacar que esta fruta tem apresentado resultados positivos em pesquisas acerca da inibição de células tumorais e cancerígenas.Em 2011, Kondo et al. (2011), estudaram estes efeitos, e chegaram a conclusão de que a melhor fonte de ácido ursólico e os seus ésteres, entre as frutas e produtos testados, foi a *Cranberry*.

Na odontologia, a *Cranberry* tem sido estudado na prevenção da cárie dentária, inibindo a produção de ácidos orgânicos e a formação de biofilmes por bactérias cariogênicas(BONIFAIT; GRENIER, 2010). Já no caso da periodontia, os polifenóis de *Cranberry* atuam reduzindo a resposta inflamatória, bem como a produção e atividade das enzimas proteolíticas que contribui para a destruição da matriz extracelular na doença periodontal(BONIFAIT; GRENIER, 2010).Os polifenóis de *Cranberry* também interferem em várias atividades (incluindo a formação de biofilme e adesão) do Porphyromonasgingivalis, o principal agente etiológico na periodontite crônica (BONIFAIT; GRENIER, 2010).

A partir dos resultados apresentados nestes diversos estudos citados acima, decidiu-se pesquisar sobre o efeito da *Cranberry* na erosão de dentina. Sendo este estudo o pioneiro nesta área da odontologia.

Os resultados desta pesquisa mostraram que o principal grupo experimental (*Cranberry*) juntamente com o grupo da Clorexidina (Controle positivo) apresentaram melhores resultados na minimização dos efeitos deletérios da erosão dentinária quando comparados aos dois grupos considerados como controles

negativos(placebo e sem gel). Tal fato reforça alguns achados de estudos semelhantes já publicados na literatura científica.

Assim como os resultados encontrados nesta pesquisa, Magalhães et al. (2009) também encontraram resultados satisfatórios em relação aos inibidores de MMPs (Clorexidina, Chá verde) utilizados em sua pesquisa, concluindo que houve diferença significativa entre os grupos, pois a Clorexidina e o Chá verde reduziram estatisticamente a erosão dentária em relação ao grupo controle. Igualmente aconteceu no estudo de Kato et al.(2010) onde desenvolveram um trabalho avaliando o possível efeito do EGCG (extrato do chá verde) e Clorexidina para impedir a erosão dentária em dentina. Ao final do trabalho pode-se concluir que os géis utilizados para este trabalho inibiram as MMPs, prevenindo a erosão dentária em dentina.

Além da Clorexidina existem outros possíveis inibidores de MMPs sendo testados na Odontologia, e muitos destes trabalhos tem alcançado um resultado satisfatório corroborando com os resultados encontrados neste trabalho. Como já observado nos estudos citados acima, outro inibidor de MMP que esta sendo bastante pesquisado é o chá verde. Um desses estudos sobre o chá verde de Kato et al.(2009), foi avaliado o seu efeito protetor sobre a erosão de dentina, os autores concluíram que o chá verde conseguiu prevenir a erosão na dentina mediante á exposição de processos erosivos.

Outros inibidores de MMPs como o zinco, o sulfato ferroso ($FeSO_4$), o amálgama através do seu condicionamento tampão, e outros metais equivalentes(KATO et al., 2010), estão sendo estudados para a prevenção da erosão dentária, e até o presente momento têm apresentado resultados promissores para esta linha de pesquisa. Como exemplo do efeito desses inibidores de MMPs,

podemos citar o trabalho de Kato et al.(2010) que testaram in vitro o efeito de $FeSO_4$ em MMP-2 e MMP -9, e avaliou *in situ* o efeito de $FeSO_4$ em gel sobre a erosão da dentina, Eles concluiram no *in vitro* que o $FeSO_4$ conseguiu inibir as MMP-2, e *in situ*, o $FeSO_4$ preveniu completamente o desgaste dentário.

Todos esses trabalhos e resultados citados acima apenas corroboram para com os resultados apresentados nesta pesquisa, mostrando a eficácia já comprovada da clorexidina na prevenção da erosão, como também os possíveis efeitos positivos da *Cranberry* na prevenção da erosão dentinária.

Assim, com base nos resultados deste trabalho, o gel a base de *Cranberry* ou seus possíveis subprodutos (verniz, solução, dentifrício, etc), podem desempenhar importante papel na prevenção da erosão em dentina, uma vez que apresentou resultados semelhantes ao que a literatura apresenta para o seu padrão ouro (Clorexidina), sem no entanto, apresentar boa parte dos seus conhecidos efeitos colaterais.

Dentre os principais efeitos colaterais do uso frequente da Clorexidina, destacam-se a possíveis alterações no paladar, ou ate a perda do paladar, possuí o sabor desagradável, o uso contínuo ou em altas concentrações podem causar o manchamento dental, apresentar áreas eritematosas e esbranquiçadas, ulcerações, e toxicidade (LABBATE; LEHN; DENARDIN, 2003; GUIMARAES et al., 2006; CARVALHO; ARAÚJO, 2004; TORRES et al., 2000). Tais fatos reforçam a necessidade de se investigar métodos alternativos na prevenção da erosão dentinária com efeitos semelhantes aos verificados na clorexidina.

Após estas discussões, podê-se concluir a importância de novos trabalhos para a confirmação destes resultados, e também de novas investigações para a confirmação dos efeitos positivos deste princípio ativo (*Cranberry*) na odontologia, por meio de outros estudos *in situ* e estudos clínicos randomizados.

7 Conclusões

Após a análise dos resultados pode-se concluir que:

Houve uma eficiência estatisticamente significante dos géis ativos à base de *Cranberry* e de Clorexidina na prevenção do desgaste da dentina submetida à erosão dentária em relação aos grupos Placebo e Controle (sem gel). Tal conclusão permite a rejeição da primeira hipótese nula formulada.

Não houve diferenças significantes na porcentagem de perda de microdureza da dentina exposta ao desafio erosivo quando referidas ao grupo controle (sem gel), *Cranberry*, Placebo e Clorexidina. Tal conclusão permite a aceitação da segunda hipótese nula formulada.

Referências

1. Aguiar FHB, Giovani EM, Monteiro FHL, Villalba H et al.. Erosão dental - definição, etiologia e classificação. Rev. Inst. Ciênc. Saúde. 2006; 24(1): 47-51.

2. Al-Dlaigan YN, Shaw L, Smith A. Dental erosion ina group of British 14-year-old, school children. Part I: Prevalence and influence of differing socioeconomic backgrounds. Br Dent J. 2001;190:145-9.

3. Alencar CRB, Efeito *in situ* de uma goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo (CPP – ACP) na erosão dentária (dissertação de mestrado), Faculdade de Odontologia de Bauru; 2013.

4. Amaeshi BT, Higham SM. In vitro remineralizationof eroded enamel lesions by saliva. J Dent. 2001;29:371-6.

5. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. J Oral Rehabil. 1999;26(8):624-30.

6. Amaral MA, Ruiz DT, Simm W, Pereira JS et al.. Desgaste dentário: estudo epidemiológico em uma população de cinco anos de Sarandi, Paraná. Revista de saúde e pesquisa. 2008; 1(2):151-56.

7. Barbosa CS, Kato MT, Buzalaf MAR. Effect of supplementation of soft drinks with green tea extract on their erosive potential against dentine. Australian Dental Journal, 2011;56:317-321.

8. Barbosa CS, Barberio GS, Marques VR, Baldo Vde O, Buzalaf MA, Magalhaes AC, Dental manifestations in bariatric patients: review of literature, J Appl Oral Sci, 2009;17 Suppl:1-4.

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

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

11. Bodet C, Chandad F, Grenier D, Inhibition of host extracellular matrix destructive enzyme production and activity by a high-molecular-weight *Cranberry* fraction, J Periodontal Res, 2007;42(2):159-68.

12. Bonifait L, Grenier D, *Cranberry* pholyphenols: potential benefits for dental caries and periodontal disease, Journal Can Dent Association, 2010;76:a130.

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

14. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al, In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine, Journal of dental research, 2007;86(6):529-33.

15. Carvalho EMC, Araújo RPC, A saúde bucal em portadores de transtornos mentais e comportamentais, Pesquisa Brasileira Odontopediatria Clinica Integrada, 2004; 4(1):65-75.

16. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S, The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries, Journal of dental research, 2006;85(1):22-32.

17. Dessì A, Atzei A, Fanos V, *Cranberry* in children: prevention of recurrent urinary tract infections and review of literature, Revista Brasileira de Farmacognosia, 2011;21(5):807-813.

18. Deziel BA, Patel K, Neto C, Gottschall-Pass K, Hurta RA, Proanthocyanidins from the American *Cranberry* (Vaccinium macrocarpon) inhibit matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 activity in human prostate cancer cells via alterations in multiple cellular signalling pathways, Journal of cellular biochemistry, 2010;111(3):742-54.

19. Dugmore CR, Rock WP. The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. Int J PaediatrDent. 2003 Sep;13(5):295-303.

20. Eccles JD, Dental erosion of nonindustrial origin, A clinical survey and classification, J Prosthet Dent, 1979;42(6):649-53.

21. Eccles JD, Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion, Dent Update, 1982;9(7):373-4, 6-8, 80-1.

22. Eccles JD, Jenkins WG, Dental erosion and diet, J Dent, 1974;2(4):153-9.

23. Featherstone J, Zero D. An *in situ* model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. J Dent Res. 1992 Apr;71 Spec No:804-10.

24. Feng G, Klein MI, Gregoire S, Singh AP et al. The specific degree-of-polymerization of A-type proanthocyanidin oligomers impacts streptococcus mutansglucan mediated adhesion and transcriptome responses within biofilms. Biofouling: The journal of bioadhesion and biofilm research, 2013;29(6):629-640.

25. Ferreira FV, Piovesan C, Pratzel JR, Ardenghi TM. Aspectos clínicos e epidemiológicos da erosão dental na dentição permanente: Revisão de literatura. InternationalJournalDentistry. 2009; 8(2):87-93.

26. Fonseca RB, Haiter-Neto F, Carlo HL, Soares CJ, Sinhoreti MA, Puppin-Rontani RM, et al, Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine teeth age, Archives of oral biology, 2008;53(11):1023-9.

27. Francisconi LF, Honorio HM, Rios D, Magalhaes AC, Machado MA, Buzalaf MA, Effect of erosive pH cycling on different restorative materials and on enamel restored with these materials, Oper Dent, 2008;33(2):203-8.

28. Ganss C, Definition of erosion and links to tooth wear, Monogr Oral Sci, 2006;20:9-16.

29. Guimaraes ARD, Peres MA, Vieira RS, Ferreira RM et al. Self-perception of side effects by adolescents in a chlorhexidine fluoride based preventive oral health program. Journal of applied oral science, 2006;14(4):291-6.

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

31. Hanan SA, Marreiro SO, Avaliação de pH de refrigerantes, sucos e bebidas lácteas, fabricados na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. Pesquisa Brasileira Odontopediatria Clínica Integrada. 2009;9(3):347-353.

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

33. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA, Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine *in situ*, Caries research, 2003;37(5):339-44.

34. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR, Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo, Journal of dental research, 2005;84(8):741-6.

35. Hisano M, Bruschini H, Nicodemo AC, Srougi M, Cranberries and lower urinary tract infection prevention, Clinics, 2012;67(6):661-67.

36. Honorio HM, Avaliação *in situ* do efeito individual e associados dos desafios erosivo e cariogênico em dentes humanos (tese de doutorado). Faculdade de Odontologia de Bauru; 2006.

37. Honorio HM, Rios D, Francisconi LF, Magalhaes AC, Machado MA, Buzalaf MA, Effect of prolonged erosive pH cycling on different restorative materials, Journal of oral rehabilitation, 2008;35(12):947-53.

38. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Buzalaf MA, Machado MA, Influence of dental plaque on human enamel erosion: *in situ* / ex vivo study, Oral Health Prev Dent, 2010;8(2):179-84.

39. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhaes AC, Buzalaf MA, Machado MA, Effects of erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges on human enamel: an *in situ*/ex vivo study, Caries research, 2008;42(6):454-9.

40. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhaes AC, Delbem AC, Buzalaf MA, et al, Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges, Caries research, 2010;44(1):29-32.

41. Hughes JA, West NX, Parker DM, Van Den Braak MH, Addy M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. J Dent. 2000;28(2):147-52.

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

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

44. Johansson AK, Sorvari R, Birkhed D, Meurman JH. Dental erosion in deciduous teeth--an in vivo and in vitro study. J Dent. 2001;29(5):333-40.

45. Labbate R, Lehn CN, Denardin OVP. Efeito da clorexidina na mucosite induzida por radioterapia em câncer de cabeça e pescoço. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. 2003;69(3):349-54.

46. Kato MT, Hannas AR, Leite AL, Bolanho A, Zarella BL, Santos J, et al, Activity of matrix metalloproteinases in bovine versus human dentine, Caries research, 2011;45(5):429-34.

47. Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Buzalaf MA, Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion *in situ*, Journal of dental research, 2010;89(5):468-72.

48. Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Calabria MP, Magalhaes AC, Pereira JC, et al, Impact of protease inhibitors on dentin matrix degradation by collagenase, Journal of dental research, 2012;91(12):1119-23.

49. Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Oliveira RC, Pereira JC, Tjaderhane L, et al, Effect of iron on matrix metalloproteinase inhibition and on the prevention of dentine erosion, Caries research, 2010;44(3):309-16.

50. Kato MT, Magalhaes AC, Rios D, Hannas AR, Attin T, Buzalaf MA, Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion, J Appl Oral Sci, 2009;17(6):560-4.

51. Kielbassa A, Muller U, Garcia-Godoy F. *In situ* study on the caries-preventive effects of fluoride-releasing materials. Am J Dent. 1999 Nov;12 Spec No:S13-4.

52. Kielbassa A, Schulte-Monting J, Garcia-Godoy F, Meyer-Lueckel H. Initial *in situ* secondary caries formation: effect of various fluoride-containing restorative materials. Oper Dent. 2003 Nov-Dec;28(6):765-72.

53. Kondo M, MacKinnon SL, Craft CC, Matchett MD, Hurta RA, Neto CC, Ursolic acid and its esters: occurrence in cranberries and other Vaccinium fruit and effects on matrix metalloproteinase activity in DU145 prostate tumor cells, Journal of the science of food and agriculture, 2011;91(5):789-96.

54. Koo H, Duarte S, Murata RM, Scott-Anne K, Gregoire S, Watson GE, et al, Influence of *Cranberry* proanthocyanidins on formation of biofilms by Streptococcus mutans on saliva-coated apatitic surface and on dental caries development in vivo, Caries research, 2010;44(2):116-26.

55. La VD, Howell AB, Grenier D,*Cranberry* proanthocyanidins inhibit MMP production and activity, Journal of dental research, 2009;88(7):627-32.

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

57. Leme RMP, Faria RA, Gomes JB, Mello JDB, Castro-Filice LS, Comparação *in vitro* do efeito de bebidas ácidas no desenvolvimento da erosão dental: Análise por microscopia de eletrônica de varredura. BioscienceJournal, 2011;27(1):162-69.

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

59. Magalhaes AC, Rios D, Bonfante G, Honorio HM, Reis KR, Compagnoni MA, Buzalaf MAR, Pro – Odonto Prótese, Programa de Atualização em Prótese Odontológica, 2009; 1ed. Porto Alegre; 2009.

60. Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MAR, Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion *in situ*. Journal Dentistry, 2009;37:994-98.

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

62. Mangueira DFB, Alvez DN, Sampaio FC, Oliveira AFB. Prevalência e fatores associados à erosão dentária em escolares de João Pessoa. Comunidade Ciências Saúde. 2009; 20(1): 29-36.

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

64. Millward A, Shaw L, Smith A. Dental erosion in fouryears-old children from different socio-economic backgrounds. J Dent. 1994;61:263-6.

65. Millward A, Shaw L, Smith AJ, Rippin JW, Harrington E, The distribution and severity of tooth wear and the relationship between erosion and dietary constituents in a group of children, Int J Paediatr Dent, 1994;4(3):151-7.

66. Mohammad DN, Garib BT. The prevalence of tooth wears among (18-25) years old college students in Sulaimani city. Journal of Zankoy Sulaimani. 2012 ;14(1).

67. Mondelli J.Estética e cosmética em clínica integrada restauradora. Quintessence. 2003.

68. Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A, Garone Netto N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. Pesquisa de Odontologia Brasileira, 2000;14(4):406-410.

69. Srinivas NR, *Cranberry* juice ingestion and clinical drug-drug interation potentials; review of case studies and perspectives, Journal Pharm Pharm Science, 2013; 16(2):289-303.

70. Nunn JH, Prevalence of dental erosion and the implications for oral health, Eur J Oral Sci, 1996;104(2 (Pt 2)):156-61.

71. O'Sullivan EA, Curzon ME, Roberts GJ, Milla PJ, Stringer MD, Gastroesophageal reflux in children and its relationship to erosion of primary and permanent teeth, Eur J Oral Sci, 1998;106(3):765-9.

72. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al, Collagen degradation by host-derived enzymes during aging, Journal of dental research, 2004;83(3):216-21.

73. Powell M, Eccles JD, The health and work of two professional groups: dentists and pharmacists, Dent Pract Dent Rec, 1970;20(11):373-8.

74. Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SR, Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth, The journal of adhesive dentistry, 2004;6(2):117-21.

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

76. Rios D, Magalhaes AC, Honorio HM, Buzalaf MA, Lauris JR, Machado MA, The prevalence of deciduous tooth wear in six-year-old children and its relationship with potential explanatory factors, Oral Health Prev Dent, 2007;5(3):167-71.

77. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C, Plasma matrix metalloproteinase (MMP)-9 levels are reduced following low-calorie *Cranberry* juice supplementation in men, J Am Coll Nutr, 2009;28(6):694-701.

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

79. Scheutzel P, Etiology of dental erosion--intrinsic factors, Eur J Oral Sci, 1996;104(2 (Pt 2)):178-90.

80. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W, Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation, Archives of oral biology, 2000;45(5):355-61.

81. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K, Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions, Journal of endodontics, 2001;27(1):23-30.

82. Silverstone LM, Hicks MJ, The structure and ultrastructure of the carious lesion in human dentin, Gerodontics, 1985;1(4):185-93.

83. Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T, The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions, Journal of dental research, 1998;77(8):1622-9.

84. Torres CRG, Kubo CH, Anido AN, Rodrigues JR, Agentes microbianos e seu potencial de uso na Odontologia, Revista Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, 2000;3(2).

85. Van Rijkom HM, Truin GJ, Frencken JEFM, Konig KG, van ‘t Hof MA, Bronkhorst EM, et al. Prevalence, distribution and background variables of smooth-bordered tooth wear in teenagers in The Hague, The Netherlands. Caries Res. 2002 Mar-Apr;36(2):147-54.

86. Vieira A, Lugtenborg M, Ruben JL, Huysmans MC, Brushing abrasion of eroded bovine enamel pretreated with topical fluorides, Caries research, 2006;40(3):224-30.

87. Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T, Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? Journal of oral rehabilitation, 2008;35(5):390-4.

88. Weiss EI, Kozlovsky A, Steinberg D, Lev-Dor R, Bar Ness Greenstein R, Feldman M, et al, A high molecular mass *Cranberry* constituent reduces mutans streptococci level in saliva and inhibits *in vitro* adhesion to hydroxyapatite, FEMS Microbiol Lett, 2004;232(1):89-92.

89. Zero DT. *In situ* caries models. Adv Dent Res. 1995;9(3):214-30.

90. Zero DT, Etiology of dental erosion--extrinsic factors, Eur J Oral Sci, 1996;104(2(Pt2)):162-77.

Anexos

ANEXO 1 – Parecer Consubstanciado do CEP

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU-USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito de um gel à base de Cranberry sobre a dentina submetida à erosão dentária.

Pesquisador: Joana Regina Dokko
Área Temática: Área 4. Equipamentos, insumos e dispositivos para saúde novos, ou não registrados no país.
Versão: 1
CAAE: 04346612.3.0000.5417
Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Bauru-USP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 138.243
Data da Relatoria: 31/10/2012

Apresentação do Projeto:
Este estudo duplo cego e cruzado constará de 2 fases com duração de 5 dias. Para tal, 10 voluntários utilizarão 2 aparelhos palatinos (um em cada fase)com 4 blocos de dentina bovina divididos em 2 grupos. Na primeira fase estarão presentes os grupos: G1 - Ação da bebida ácida (Coca-cola®)sobre a dentina bovina sem nenhum tipo de tratamento prévio; G2 - Ação da bebida ácida sobre a dentina tratada com gel à base de Cranberry e na
segunda fase serão testados os grupos: G3 - Ação da bebida sobre a dentina tratada com gel de aplicação tópica sem nenhum princípio ativo; G4 -Ação da bebida ácida sobre a dentina tratada previamente com gel de Clorexidina. Cada aparelho será imerso na bebida ácida, 3x/dia, durante 5 minutos por 5 dias. A porcentagem de perda de microdureza de superfície e a perfilometria serão as variáveis utilizadas para quantificar as
alterações da dentina.

Objetivo da Pesquisa:
Este projeto tem como objetivo estudar in situ o efeito protetor de um gel à base de Cranberry aplicado sobre a dentina submetida à erosão

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Riscos: Este estudo não apresenta riscos aos voluntários da pesquisa.
Benefícios:Apresentar uma alternativa de proteção e prevenção contra a erosão dentária.

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** mferrari@fob.usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A presente pesquisa tem como hipótese:Considerar a possibilidade de que os componentes do Cranberry possam inibir as metaloproteinases da dentina exposta a agentes erosivos, bem
como o fato de não existirem trabalhos verificando-se tal fenômeno, este estudo in situ terá como objetivo avaliar o possível efeito protetor de um gel à base de Cranberry aplicado sobre a dentina submetida à ação de agentes erosivos.

Apresenta metodologia proposta adequda aos objetivos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória apresentados corretamente

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existem inadequações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP acata o parecer APROVADO emitido pelo relator.

Esse projeto foi considerado APROVADO. O CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatórios anuais (parciais e finais), conforme o cronograma apresentado. Qualquer alteração na metodologia e/ou título e a inclusão ou exclusão de autores deverá ser prontamente comunicada. Lembramos que na apresentação do relatório final, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação de dentes devidamente assinados e rubricados.

BAURU, 05 de Novembro de 2012

Assinador por:
Maria Teresa Atta
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** mferrari@fob.usp.br

ANEXO 1 – Orientação entregue para os voluntários

Como fazer a pesquisa?

- Você irá utilizar um aparelho móvel por 2 períodos de 5 dias (totalizando 10 dias);
- Cada período da pesquisa será realizado de segunda a sexta-feira e não envolverá os finais de semana. Entre cada período, haverá um intervalo de 1 semana de descanso sem utilizar nenhum aparelho.
- Durante todo o período de execução deste trabalho, utiliza SOMENTE o creme dental entregue a você pela responsável da pesquisa.
- Nos 2 períodos, você deverá utilizar o aparelho por no mínimo 21 horas por dia, podendo apenas retirá-lo no máximo 3 horas por dia (1 hora para cada refeição, aproveitando a retirada para fazer a própria higiene bucal);
- Sempre que o aparelho estiver fora da boca, embrulhe-o em gaze úmida para não ressecá-lo.
- Após cada refeição e a higiene bucal, recoloque o aparelho na boca e somente após 10 minutos você deverá imergir todo o aparelho em Coca-Cola por 5 minutos, totalizando então, 3 imersões por dia.
- Entre cada imersão em Coca-cola, nunca poderá haver um intervalo menor do que 3 horas.
- O volume de Coca-Cola a ser utilizado corresponde ao limite da borda do copo de vidro que você recebeu.
- Utilize uma nova garrafa de Coca-cola por dia. O restante da bebida que não for utilizar para este trabalho pode ser guardado para consumo futuro, caso deseje.
- O aparelho deve ser imerso em bebida na TEMPERATURA AMBIENTE, nunca GELADA.
- Jamais escove ou limpe o aparelho durante a pesquisa. Quando necessário, lave-o somente em agua corrente pela parte de traz, nunca pela parte dos blocos. Evite também ficar passando a língua no aparelho enquanto estiver dentro da boca. Tais procedimentos podem prejudicar a pesquisa.

  - Você deve estar ciente que o não cumprimento das instruções poderá prejudicar os resultados da pesquisa e que a sua participação ajudará no estabelecimento de protocolos educativos em relação ao consumo de refrigerantes voltados para a população de modo geral. Não há nenhum tipo de risco à sua cavidade bucal ou aos seus dentes, pois o experimento será conduzido fora da boca, nos pedaços de dente fixados no aparelho.

Qualquer dúvida ou maiores esclarecimentos você poderá me ligar – Joana Dokko -Telefone (14) 8168-1829 ou (14)3016-0270