UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia de Bauru

CATARINA RIBEIRO BARROS DE ALENCAR

Efeito *in situ* da utilização de uma goma de mascar com caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao desafio erosivo inicial

BAURU
2015

CATARINA RIBEIRO BARROS DE ALENCAR

**Efeito *in situ* da utilização de uma goma de mascar com caseína
fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao
desafio erosivo inicial**

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Odontopediatria.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Rios Honório

Versão corrigida

BAURU
2015

AL25e Alencar, Catarina Ribeiro Barros de
Efeito *in situ* da utilização de uma goma de mascar com caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao desafio erosivo inicial./ Catarina Ribeiro Barros de Alencar. – Bauru, 2015.

113 p. : il. ; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Rios Honório

Nota: A versão original desta dissertação/tese 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: 553.729
Data: 12 de Março de 2014

DADOS CURRICULARES

Catarina Ribeiro Barros de Alencar

Nascimento	08 de Julho de 1986
Naturalidade	Campina Grande, Paraíba
Filiação	Benemar Alencar de Souza Maria de Fátima Ribeiro Barros
2005 – 2009	Curso de Graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba - Campina Grande - PB.
2010 – 2012	Curso de Especialização em Dentística, Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo - Bauru - SP.
2011 – 2013	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Odontopediatria, nível de Mestrado pela Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo - Bauru – SP
2013-2015	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Odontopediatria, nível de Doutorado pela Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo - Bauru – SP
Associações	Conselho Regional de Odontologia - Paraíba (CRO) Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO) International Association for Dental Research (IADR)

DEDICATÓRIA

Ao meu avô, Luís de França Ribeiro Barros (*in memorian*),

Que com toda sua competência e dedicação à arte de cuidar de pessoas, enfrentou todas as adversidades e em 1927 defendeu publicamente na Faculdade de Medicina da Bahia a tese que lhe conferiu o título de doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas. Querido vovô Lula, o senhor foi, em mais esse momento, a motivação para que eu acreditasse que essa conquista seria possível.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus,

Pelo amparo nos momentos difíceis, pela graça dos momentos de alegria e por suprir todas as minhas necessidades.

À minha orientadora, Prof^ª Dr^a Daniela Rios,

Dani, com você aprendi tantas coisas... Mas de todos os ensinamentos talvez a principal lição é a de que devemos ser justos nas nossas condutas e aptos a retroceder ou mudar de rumo quando for preciso. Agradeço por toda a paciência, pela dedicação profissional e por sempre ter me orientado muito além dos conhecimentos científicos. Muito obrigada por tudo!

Aos voluntários que participaram deste estudo, Isabela, Poliana, Vinícius Ceron, Vinícius da Silva, Mariele, Mateus, Matheus, Pedro, Marcela, Vitor, Thais, Gustavo, Matheus, Juliana, Maisa, Paola, Gabriela, Priscilla, Ana e Brunna,

Agradeço a prontidão com que se disponibilizaram a participar desta pesquisa, a contribuição de cada um de vocês foi fundamental. Muito obrigada!

Aos meus pais, Benemar e Fátima,

Por todo incentivo e apoio incondicional ao longo dessa jornada e por terem sonhado comigo os meus sonhos. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Gustavo e Mariana,

Pela amizade e pelo carinho de sempre e por me fazerem acreditar que somos capazes de alcançar nossos objetivos. Vocês são parte dessa história!

Ao meu amor, Juliherme,

Pelo companheirismo e por todo o seu amor que me fazem acreditar que não chegamos a nenhum lugar sozinhos. Obrigada por compreender minhas angustias, incentivar meus planos e por ter sempre uma palavra bem colocada a dizer. Te amo muito!

AGRADECIMENTOS

Aos professores do departamento de Odontopediatria da FOB- USP durante o doutorado: Profª Drª Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, Profª Drª Salete Moura Bonifácio da Silva, Profª Drª Thaís Marchini de Oliveira e Prof Dr Thiago Cruvinel,

Pela oportunidade de convívio nas atividades clínicas e didáticas, pelo empenho e satisfação na transmissão do conhecimento. Agradeço por me permitirem confirmar a minha escolha profissional. A vocês a minha consideração e respeito!

Ao Prof Dr Heitor Marques Honório,

Pela receptividade e disponibilidade em ajudar sempre que precisei, inclusive com a valiosa contribuição para realização da estatística desse trabalho.

Ao Prof Dr Alessandro Leite Cavalcanti, meu orientador de iniciação científica na Universidade Estadual da Paraíba,

Agradeço por toda contribuição no início da minha formação acadêmica e pelo incentivo dado para que eu continuasse a caminhada!

A Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, na pessoa de sua diretora, Profª Drª Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado e à comissão de pós-graduação desta instituição, presidida pelo Prof Dr Guilherme Janson,

Pelo magnífico trabalho desenvolvido em benefício do reconhecimento da excelência desta instituição de ensino e do seu programa de pós-graduação.

Os funcionários do departamento de Odontopediatria FOB-USP, Alexandre, Dona Lia, Estela, Evandro, Lílían e Lourisvalda,

Pela atenção com que nos atenderam durante todos esses anos, sempre de maneira generosa e prestativa.

Ao departamento de Ciências Biológicas - Disciplina de Bioquímica da FOB-USP, na pessoa da Profª Drª Marília Anfonso Rabello Buzalaf,

Pela disponibilização de acesso aos equipamentos do laboratório necessários para a realização desse estudo.

Aos funcionários do laboratório de bioquímica da FOB-USP, Aline, Larissa, e Thelma,

Pela solicitude e disponibilidade em ajudar.

Às funcionárias da secretaria de pós-graduação da FOB-USP, Fátima, Meg e Letícia,

Pela atenção dispensada para solucionar as dúvidas e as questões burocráticas.

À Central de Esterilização Acecil,

Pela esterilização dos blocos de dentes utilizados nesse e em outros estudos *in situ* conduzidos durante o curso de doutorado.

À Kraft Foods/Cadbury Adams,

Pela disponibilização das gomas de marcar utilizadas nessa pesquisa.

Aos colegas de pós-graduação com os quais tive a oportunidade de conviver durante o doutorado: Fabrício, Gabriel, Gabriela, Maisa, Maria Teresa, Priscilla e Nádia

Pela amizade e por dividirem comigo preocupações e momentos de descontração. Formamos uma turma maravilhosa. Desejo muito sucesso a cada um de vocês!

Agradeço às colegas de pós graduação orientadas pela Profª Dani: Maisa, Franciny, Fernanda, Paola, Janaína, Gabriela e Priscilla

Foram tantos desafios enfrentados e tantas conquistas juntas... Agradeço por todos os momentos vividos e pelo aprendizado que compartilhamos! Foi muito bom tê-las como colegas de pesquisa, contem sempre comigo!

À minha colega de doutorado e amiga Maisa,

Má, você é um anjo! Ter te conhecido foi mais uma das boas surpresas que a FOB me trouxe. Você é um exemplo de dedicação e de eficiência em tudo o que faz. As suas atitudes demonstram que você “faz o bem sem olhar a quem” e isso é muito raro

de se ver. Torço demais pelo seu sucesso e por sua felicidade. Saiba que levo comigo um carinho e uma gratidão imensa por tudo que você fez por mim...

Às amigas Fernanda, Soraia e Mariana

Que retornaram para suas cidades após o mestrado e deixaram em mim laços sinceros de amizade. Vocês são um presente de Deus! Nandinha, obrigada por todas as palavras de incentivo e por tentar me acalmar nos momentos em que mais precisei! Sol, o carinho que sinto por você é imenso. Agradeço toda a torcida para que tudo desse certo! Mari, nossa convivência diária infelizmente foi curta, mas o suficiente para que eu percebesse a linda pessoa que você é. Os momentos em que dividimos seja nos estudos ou na diversão serão sempre lembrados com carinho.

A todos os meus familiares, tias, tios, primas e primos, aos meus sogros, aos meus cunhados e cunhadas, e aos queridos amigos da Paraíba, em especial à Alidianne, Tássia, Paulinha, Alexandre, Dmitry, Rafael, e Pierry,

Pela torcida fervorosa em favor do meu sucesso. Cada um de vocês é muito especial para mim!

A todos que estiveram na torcida e que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigada!

*“Sempre que puder, fale de amor e com amor para
alguém. Faz bem aos ouvidos de quem ouve e à
alma de que fala”*

Irmã Dulce

RESUMO

O efeito protetor da caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) contra a erosão dentária é controverso. Este estudo *in situ* teve como objetivo investigar a capacidade de uma goma de mascar com CPP-ACP em prevenir uma única desmineralização erosiva. Blocos de esmalte bovino (120) selecionados pela dureza superficial inicial foram divididos aleatoriamente entre os grupos: GI - goma de mascar com CPP-ACP, GII - goma de mascar sem CPP-ACP e GIII - controle negativo para avaliação do efeito protetor sem estimulação salivar (sem goma de mascar). Dezenove voluntários participaram do estudo durante três fases cruzadas de 2 h cada. Nas fases de GI e GII os voluntários usaram dispositivos intrabucais palatinos contendo 2 blocos de esmalte, durante 120 minutos e mascaram uma unidade da goma de mascar correspondente ao grupo nos últimos 30 minutos. No grupo controle os voluntários usaram o dispositivo intrabucal por 2h, sem uso de goma de mascar. Em cada fase, imediatamente após a utilização, os dispositivos intrabucais foram imersos em refrigerante tipo cola durante 5 minutos para promover a desmineralização erosiva. A dureza superficial final foi mensurada e os valores foram utilizados para o cálculo do percentual de perda de dureza. Os dados foram analisados por ANOVA de medidas repetidas e teste Tukey ($\alpha = 5\%$). Menor perda de dureza do esmalte foi encontrada após a utilização de goma de mascar com (GI - 32,7%) e sem (GII - 33,5%) CPP-ACP relação ao efeito salivar sem estimulação (GIII - 39,8%) ($p < 0,05$). Não houve diferença entre GI e GII ($p > 0,05$). Os resultados sugerem que a utilização de goma de mascar imediatamente antes de uma desmineralização erosiva é capaz de diminuir a perda de dureza do esmalte. No entanto, a presença de CPP-ACP na goma de mascar não foi capaz de melhorar este efeito.

Palavras chave: Erosão dentária, esmalte dentário, goma de mascar, caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo, *in situ*.

ABSTRACT

Effect of CPP-ACP chewing gum previously to erosive demineralization

The erosion-protective effect of CPP-ACP is controversial. This *in situ* study aimed to investigate the ability of CPP-ACP chewing gum to prevent a single event of erosive demineralization. Bovine enamel blocks (120), after selection (initial surface hardness) were randomly assigned to groups: GI-chewing gum with CPP-ACP, GII-chewing gum without CPP-ACP and Control group-salivary effect without stimulation (no gum). Nineteen volunteers participated on this study during 3 crossover phases of 2 h. On GI and GII, the volunteers wore intraoral palatal devices for 120 min and chewed a unit of the corresponding chewing gum on the last 30 min. On Control group the volunteer wore the appliance for 2 h, without chewing gum. On each phase immediately after the intraoral use, devices were extra orally immersed in cola drink for 5 minutes to promote erosive demineralization. The percentage of surface hardness loss was calculated. The data were analyzed by Repeated Measures ANOVA and Turkey's test. Less enamel hardness loss was found after the use of chewing gum with (GI-32.7 %) and without (GII-33.5%) CPP-ACP when compared to salivary effect without stimulation (control- 39.8%) ($p < 0.05$). There was no difference between GI and GII ($p > 0.05$). The results suggest that the use of chewing gum immediately before an erosive demineralization is able to diminish the enamel hardness loss. However, the presence of CPP-ACP in the chewing gum cannot enhance this protective effect.

Key words: Tooth erosion, dental enamel, chewing gum, casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate, *in situ*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Separação da raiz de sua coroa	66
FIGURA 2 Secção dupla nos sentidos cérvico-incisal e mésio-distal	66
FIGURA 3 Aspecto antes e após a planificação da dentina	66
FIGURA 4 Aspecto do esmalte após o polimento	66
FIGURA 5 Armazenamento dos blocos de esmalte em recipiente plástico	66
FIGURA 6 Determinação dos limites da endentação em esmalte hígido (imagem em maior aumento 40x).	66
FIGURA 7 Blocos de esmalte embalados e esterilizados	66
FIGURA 8 Modelo do dispositivo intrabucal palatino utilizado	66
FIGURA 9 Imersão do dispositivo em bebida tipo cola	66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Constituintes principais das gomas de mascar avaliadas segundo informações do fabricante Trident, Cadbury Adams Indústria e Comércio, Bauru, São Paulo, Brasil. 58

TABELA 2 Médias e desvios-padrão da dureza de superfície de esmalte hígido (baseline), esmalte desmineralizado (KHN) e a porcentagem de perda de dureza de superfície (% PDS) para os grupos experimentais (n = 19)..... 69

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E PALAVRAS DE LÍNGUA ESTRANGEIRA

®	Marca registrada
CPP-ACP	do inglês, Casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate, Caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo
<i>in situ</i>	do latim, em sítio, no local (no caso, a cavidade bucal)
pH	Potencial hidrogeniônico
<i>in vitro</i>	do latim, em laboratório
<i>in vivo</i>	do latim, em ser humano
%	Por cento
p	Probabilidade
<	Menor que
Ca	Cálcio
Fe	Ferro
P	Fósforo
F	Flúor
Min	Minutos
α	Alfa
β	Beta
κ	Capa
Glu	Glutamina
Ser	Serina
mg	Miligrama
kg	Quilograma
™	do inglês, <i>Trademark</i> , Marca registrada
OR	do inglês, <i>odds ratio</i> , razão de chances
ppm	Parte por milhão
AmF	Fluoreto de amina
NaF	Fluoreto de sódio
μm	Micrometro
h	Horas
n	Número amostral
N	Newton

<i>SH_i</i>	Dureza superficial inicial
<i>SH_d</i>	Dureza superficial pós desmineralização
<i>SH_f</i>	Dureza superficial final
<i>SH_{f1}</i>	Dureza superficial final após 2 horas
<i>SH_{f2}</i>	Dureza superficial final após 24 horas
cm	Centímetro
mm	Milímetro
rpm	Rotações por minutos
g	Gramas
kHz	Quilohertz
°C	Grau Celsius
KHN	do inglês, Knoop hardness number, valor de dureza Koop
ml	Mililitros
%SHR	Percentual de recuperação de dureza
%PDS	Percentual de perda de dureza superficial
±	Mais ou menos
dP	Desvio padrão
<i>ex vivo</i>	do latim, realizado fora do organismo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 A erosão dentária na atual perspectiva científica	27
2.2 Prevalência, incidência e fatores de risco associados à erosão	29
2.3 Prevenção e controle da erosão dentária	34
2.4 A Caseína e o CPP-ACP	38
2.5 O CPP-ACP na erosão dentária	42
3. PROPOSIÇÃO	53
4. MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1 Aspectos éticos	57
4.2 Delineamento experimental	57
4.3 Obtenção, planificação e polimento dos blocos de esmalte	58
4.4 Avaliação da dureza superficial inicial e seleção dos blocos de esmalte	61
4.5 Esterilização dos blocos de esmalte	61
4.6 Cálculo amostral e seleção dos voluntários	62
4.6.1 Avaliação do fluxo salivar não estimulado	62
4.6.2 Avaliação do fluxo salivar estimulado	63
4.7 Aleatorização dos blocos de esmalte entre os grupos	63
4.8 Preparo do dispositivo intrabucal palatino	63
4.9 Procedimentos intrabucais	64
4.10 Análise da dureza superficial pós desmineralização	65
4.11 Análise estatística	65
5. RESULTADOS	69
6. DISCUSSÃO	73

6.1 Considerações sobre a metodologia empregada	73
6.2 Considerações sobre os resultados	77
7. CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICES	107
ANEXO	113

Introdução

“Tudo tem começo e meio. O fim só existe
para quem não percebe o recomeço.

Luiz Gasparetto

”

1. Introdução

A erosão dentária tem recebido grande atenção por parte de clínicos e pesquisadores frente ao aumento contínuo da sua prevalência e incidência (JAEGGI; LUSI, 2014; SALAS et al., 2015), determinando a necessidade de compreensão da sua dinâmica de desenvolvimento para que medidas preventivas sejam satisfatoriamente estabelecidas (SCHLUETER et al., 2011; WEST; DAVIES; AMAECHI, 2011; WIEGAND; ATTIN, 2011; YOUNG; TENUTA, 2011).

Tradicionalmente, a erosão é descrita como uma perda irreversível de tecido dentário duro causada por ácidos não-bacterianos de origem extrínseca ou intrínseca (IMFELD, 1996; LUSI; JAEGGI; ZERO, 2004; BARTLETT, 2006). No entanto, conceitos atuais a descrevem como uma perda de estrutura progressiva, (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011; SHELLIS et al., 2011; LUSI; CARVALHO, 2014; SHELLIS; FEATHERSTONE; LUSI, 2014) que no estágio inicial se manifesta apenas pelo amolecimento do esmalte e consequente perda da sua integridade estrutural e resistência mecânica, sendo passível de remineralização (AMAECHI; HIGHMA, 2001; AMAECHI, HIGHMA, 2005; SHELLIS; FEATHERSTONE; LUSI, 2014). Todavia, se o desafio erosivo for prolongado, com repetidos eventos de amolecimento, a superfície torna-se mais vulnerável a forças abrasivas, favorecendo a perda superficial definitiva do tecido dentário (SHELLIS et al., 2011; LUSI, CARVALHO, 2014; SHELLIS; FEATHERSTONE; LUSI, 2014).

Para que haja o surgimento e a progressão da erosão dentária fatores químicos (relacionados ao agente erosivo), biológicos (próprios do indivíduo) e comportamentais (que dizem respeito a forma e a frequência de desafios erosivos) (LUSI, 2006; SERRA; MESSIAS; TURSSI, 2009) devem atuar em conjunto. Diante do entendimento de que a erosão tem etiologia multifatorial, o desenvolvimento de abordagens preventivas para evitar a dissolução do tecido dentário tem se tornado cada vez mais importante (MAGALHÃES et al., 2009b). Tais medidas preventivas devem ser iniciadas o mais precocemente possível e precisam incluir, além da redução dos desafios erosivos, condição que depende da mudança de hábitos do

indivíduo, estratégias para potencializar os fatores protetores naturais, de modo a permitir o equilíbrio do ambiente bucal (LUSSI; CARVALHO, 2014).

Dentre os fatores de proteção natural, a saliva é considerada o componente biológico com melhor potencial para modificar a progressão da erosão dentária (HARA; LUSSI; ZERO, 2006; MAGALHÃES et al., 2009b; BUZALAF, HANNAS, KATO, 2012; HARA, ZERO, 2014). O mecanismo de proteção salivar inclui a ação de limpeza, capacidade tampão (LENDENMANN; GROGAN; OPPENHEIM, 2000; HANNIG et al., 2009) e formação da película salivar adquirida (HANNIG; JOINER, 2006; SIQUEIRA; CUSTODIO; MCDONALD, 2012; BUZALAF, HANNAS, KATO, 2012). Esta película atua como uma barreira de difusão natural (SIQUEIRA et al., 2010) e como consequência da atuação há uma diminuição na taxa de difusão de íons cálcio e fosfato ao redor da fase fluida do esmalte dentário, após a exposição a condições ácidas, protegendo assim contra a desmineralização do tecido mineral duro (HANNIG; BALZ, 1999; SIQUEIRA et al., 2010). Ademais, o nível de bicarbonato na saliva é positivamente correlacionado com a taxa de fluxo salivar, o que significa que a saliva produzida em alto fluxo apresenta maior pH e maior capacidade de tamponamento (MOSS, 1998). Por isso, tem-se especulado que o efeito protetor da saliva na erosão / abrasão do esmalte pode ser reforçada por estimulação do fluxo salivar através do uso de goma de mascar (RIOS et al., 2006b; RIOS et al., 2008).

A goma de mascar pode também ser utilizada como veículo para oferta de substâncias como clorexidina, enzimas, fluoreto, íons bicarbonato (POLLAND; HIGGINS; ORCHARDSON, 2003) e para a caseína fosfopetídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) (SHEN et al., 2001; IJIMA et al., 2004; ITTHAGARUN et al., 2005; MORGAN et al., 2008; COCHRANE et al., 2012). A caseína é uma proteína derivada do leite bovino (SHEN et al., 2001; KUMAR; ITTHAGARUN; KING, 2008) e quando associada ao fosfato de cálcio amorfo é responsável pela biodisponibilização de fosfato e cálcio no ambiente bucal (LENNON et al., 2006), capaz de exercer efeitos protetores contra a erosão dentária suprimindo a desmineralização, aumentando a remineralização ou atuando em combinação desses dois processos (YAMAGUCHI et al., 2007).

Diferentes veículos para o CPP-ACP têm sido avaliados no que se refere à prevenção da erosão dentária (GUPTA; PRAKASH, 2011), a exemplo do emprego

de pasta ou mousse de aplicação tópica (REES; LOYN; CHADWICK, 2007; RANJITKAR et al., 2009a; RANJITKAR et al., 2009b; POGGIO et al., 2009; WANG et al., 2011; ABDULLAH et al., 2012; WEGEHAUPT et al., 2012; POGGIO et al., 2013; WIEGAND; ATTIN, 2014) ou do acréscimo do CPP-ACP à bebida erosiva (RAMALINGAM et al., 2005; MANTON et al., 2010). Independentemente do veículo, alguns estudos encontraram proteção parcial (RAMALINGAM et al., 2005; REES; LOYN; CHADWICK, 2007; POGGIO et al., 2009; POGGIO et al., 2013; MANTON et al., 2010) ou nenhum efeito (WANG et al., 2011; ABDULLAH et al., 2012; WEGEHAUPT et al., 2012) do CPP-ACP contra a erosão dentária. Outros estudos mostraram um efeito protetor até mesmo em condições erosivas severas (RANJITKAR et al., 2009a, RANJITKAR et al., 2009b, RANJITKAR et al., 2009c), supostamente em função da remineralização pelo depósito de mineral na zona de superfície porosa do esmalte erodido (TANTBIROJN et al., 2008). No entanto, o mecanismo de ação do CPP-ACP na erosão dentária não foi totalmente elucidado.

Estudos prévios constataram que a goma de mascar contendo CPP-ACP potencializa a precipitação mineral no esmalte erodido (PRESTES et al., 2013; ALENCAR et al., 2014) contudo, conforme salientado por Huysmans et al. (2014), em referência ao papel do fluoreto na prevenção e tratamento da erosão, a superfície amolecida do esmalte é rapidamente perdida, uma vez que os desafios erosivos se repetem continuamente, reduzindo a oportunidade de redeposição mineral. Assim sendo, o efeito predominante dos tratamentos preventivos deve ser a proteção da superfície contra a desmineralização ao invés da remineralização (MAGALHÃES et al., 2011).

Diante do exposto, torna-se relevante avaliar a capacidade do uso da goma de mascar com CPP-ACP em diminuir a desmineralização erosiva para melhor esclarecer o seu mecanismo de ação e para tal seria necessário avaliar apenas um único e breve evento de erosão. Desta forma, o objetivo deste estudo *in situ* foi avaliar o efeito da utilização de uma goma de mascar com caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao desafio erosivo inicial.

“

*Grandes realizações são possíveis
quando se dá atenção aos pequenos
começos.*

Lao-Tsé

”

Revisão de Literatura

2. Revisão de Literatura

2.1. A erosão dentária na atual perspectiva científica

Ao longo da vida os dentes são expostos a inúmeras injúrias físicas e químicas que em graus diversos contribuem para o desgaste dos tecidos dentais duros (GANSS, 2014). O desgaste dentário é, portanto, um processo progressivo e envolve três fatores; A fricção de um agente exógeno sobre a superfície dentária (abrasão) e a fricção dos dentes antagonistas pelo contato dente a dente (atrição) são fatores mecânicos relacionados ao desgaste, enquanto que o terceiro fator corresponde à dissolução química do mineral dos dentes (erosão). Esses processos podem resultar isoladamente em perda de tecido dental, mas geralmente o desgaste é uma condição interativo em que a abrasão ou atrição são potencializadas em função de uma desmineralização inicial (SHELLIS, ADDY, 2014, GANSS, 2014). Tem sido postulado também, que um quarto fator (abfração) pode estar envolvido, visto que cargas oclusais anormais podem predispor o esmalte cervical ao desgaste mecânico e químico (GRIPPO, 1991). Todos esses fatores ocorrem na dentição em maior ou menor extensão, de modo que o desgaste resulta da ação simultânea e/ou sinérgica desses processos. Assim sendo, a morfologia e a severidade dos defeitos dependem do fator etiológico predominante (SHELLIS, ADDY, 2014).

A erosão dentária pode ser definida como a dissolução do dente por ácidos quando a fase aquosa circundante é subsaturada em relação ao mineral do dente (LARSEN, 1990). Essa condição tem sido muitas vezes descrita unicamente como sendo um fenômeno superficial, ao contrário da cárie dentária, identificada por seus efeitos destrutivos envolvendo tanto a superfície como a região subsuperficial. Contudo, conforme salientaram Lussi e Carvalho (2014) a erosão também causa a dissolução do mineral dentro da camada amolecida, abaixo da superfície, não sendo, portanto, um fenômeno exclusivamente superficial. Desse modo, o termo “desmineralização próxima à superfície” tem sido sugerido para designar a desmineralização ocorrida em lesões de erosão, diferenciando-a do processo que ocorre em lesões de cárie (SHELLIS et al., 2013).

Ainda hoje diversos aspectos estudados principalmente em laboratório e que são considerados válidos para as lesões de cárie têm sido inapropriadamente extrapolados para a erosão dentária. Entretanto, a erosão é consideravelmente diferente da cárie dentária e alguns aspectos precisam ser reconsiderados (LUSSI, CARVALHO, 2014). A erosão se processa quando ocorre queda no pH do meio bucal, mas não existe um valor fixo de pH crítico para que isso aconteça, assim como é estabelecido para a cárie (pH entre 5,5 e 5,7). O valor do pH crítico depende da solubilidade do sólido em questão e da concentração dos minerais relevantes que constituem a solução erosiva. No caso do tecido mineral os constituintes de interesse são o cálcio, o fosfato e em menor extensão o fluoreto. Esses minerais determinam o grau de saturação da solução, considerada a força motriz tanto para a dissolução, quanto para a precipitação mineral (LUSSI et al., 2011; LUSI et al., 2012).

No que se refere ao processo de remineralização promovido pela saliva, bem compreendido para as lesões subsuperficiais de cárie em estágios iniciais, o processo de captura de minerais nas lesões de erosão é confinado somente à região superficial e próxima à superfície, ou seja, na região amolecida. Assim, o termo remineralização, comumente aceito no campo da cariologia, deve ser reconsiderado em relação à erosão dentária (LUSSI et al., 2011). Em lesões de cárie, mesmo uma remineralização parcial é considerada válida, visto que preserva a camada superficial relativamente intacta, mantendo a resistência mecânica e prevenindo a cavitação. Contrariamente, as lesões erosivas são vulneráveis a outros danos imediatamente após a sua formação. Nesse sentido, o objetivo da remineralização de lesões de erosão seria restaurar a resistência mecânica o máximo possível para evitar prejuízos subsequentes, contudo, evidências tem mostrado que isso está distante de ser alcançado (SHELLIS, FEATHERSTONE, LUSI et al., 2014).

Estudos prévios demonstraram que é possível restaurar a resistência do esmalte a forças mecânicas em protocolos *in vitro* mediante exposição à saliva artificial durante várias horas (ATTIN et al., 2000; EISENBURGER et al., 2001; KLONT; TEN CATE 1991; MUKAI; TEN CATE, 2001) *In vivo*, a remineralização do esmalte ou da dentina restaura apenas parcialmente a resistência mecânica à abrasão e as melhorias levariam de algumas horas a semanas de exposição à saliva (WIEGAND, SCHLUETER, 2014; LUSI, CARVALHO, 2014), principalmente em

função da baixa supersaturação da saliva (LARSEN; FEJERSKOV, 1989) e da presença de inibidores da precipitação de cálcio e fosfato que limitam a quantidade e a taxa de crescimento dos cristais minerais (SHELLIS, FEATHERSTONE, LUSSI, 2014).

Por conseguinte, atualmente se considera que não existe um período específico de espera entre o desafio erosivo e a escovação dos dentes, como postulado anteriormente (ATTIN et al., 2000; ATTIN et al., 2001, JAEGGI, LUSSI et al. 1999; RIOS et al., 2006a). O conceito prévio baseava-se no possível efeito remineralizador da saliva atuando em tempo suficiente para promover o re-endurecimento da camada superficial amolecida, antes que forças mecânicas fossem aplicadas mediante a escovação (LUSSI, CARVALHO, 2014). Estudos prévios delineados para determinar o tempo de espera ideal (JAEGGI, LUSSI et al. 1999; ATTIN et al., 2001) sugeriram que a escovação fosse realizada 60 minutos após o desafio erosivo. Embora os referidos protocolos tenham constatado diferença estatística no efeito da espera para realização da escovação, ainda se observou perda substancial de tecido dental mesmo após 60 minutos. Posteriormente, Ganns et al (2007) preconizaram o tempo de espera de 2 horas e ainda assim não foi possível evidenciar efeito protetor em relação à abrasão do esmalte. Todavia, segundo Bartlett et al., (2013) o efeito da escovação deve ser considerado como fator relacionado à erosão ao que se refere ao tipo de escovação e aos movimentos realizados com essa finalidade. Desse modo, os autores sugeriram que modificar hábitos de escovação inadequados é substancialmente mais importante do que orientar que o paciente aguarde algum tempo após o desafio erosivo para realizar a escovação de seus dentes.

2.2. Prevalência, incidência e fatores de risco associados à erosão

As evidências atuais indicam que a ocorrência de erosão vem crescendo progressivamente (JAEGGI, LUSSI, 2014), de modo que o conhecimento acerca da distribuição e dos fatores associados à erosão em um grupo específico de indivíduos torna-se extremamente benéfico, por permitir o diagnóstico precoce e a instituição de estratégias eficazes de prevenção (NAHAS PIRES CORREA et al., 2011).

No geral, indivíduos do sexo masculino apresentam maior desgaste dentário erosivo e existe uma tendência de que a ocorrência de erosão seja mais

pronunciada em grupos de indivíduos mais jovens e um maior número de lesões erosivas é encontrado em função do aumento da idade, assim como se constata que tais lesões progridem com o passar dos anos (JAEGGI, LUSI, 2014).

Desde meados de 1990 vários estudos epidemiológicos sobre a erosão dentária em crianças e adolescentes têm sido desenvolvidos (MILLWARD; SHAW; SMITH, 1994; MILOSEVIC; YOUNG; LENNON, 1994; DEERY et al., 2000; DUGMORE; ROCK, 2004b; AUAD et al., 2007; EL KARIM et al., 2007; RIOS et al., 2007; EL AIDI; BRONKHORST; TRUIN, 2008; ARNADOTTIR et al., 2010; WANG et al., 2010; GURGEL et al., 2011a; GURGEL et al., 2011b; MURAKAMI et al., 2011; NAHAS PIRES CORREA, et al., 2011; ABU-GHAZALEH; BURNSIDE; MILOSEVIC, 2013, KIRTHIGA et al., 2015, TAO et al., 2015). Contudo, a comparação e interpretação desses estudos são complexas, em razão dos diversos índices utilizados (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001, JAEGGI, LUSI, 2014)). Enquanto alguns estudos têm registrado erosão apenas em dentes anteriores, região em que é mais perceptível (EL KARIM et al., 2007), outros levantamentos também avaliaram os molares (MILOSEVIC; YOUNG; LENNON, 1994; DUGMORE; ROCK, 2004b; AUAD et al., 2007; ABU-GHAZALEH; BURNSIDE; MILOSEVIC, 2013). Além das diferenças nos critérios diagnósticos, fatores socioeconômicos, culturais e geográficos podem influenciar nos dados de prevalência (WANG et al., 2010). Tais diferenças podem ser explicadas em razão de alguns estudos serem conduzidos com amostras pequenas, em distintos grupos etários e com diferentes abordagens estatísticas (LUSI; JAEGGI; ZERO, 2004).

Relatos de prevalência de desgaste erosivo variam amplamente na literatura. Em um estudo de revisão da literatura, Jaeggi e Lussi (2006) apontaram que os intervalos identificados são de 6-50% em pré-escolares, 11-100% em adolescentes (9-17 anos) e 4-82% em adultos, sendo constatado que com o aumento na idade média da população examinada há uma tendência de detecção de um maior número de lesões erosivas. Jaeggi e Lussi (2014) apontam que crianças em idade escolar já apresentam lesões erosivas em dentes permanentes em 14% dos casos. Em recente revisão sistemática a prevalência de desgaste dentário erosivo em dentes permanentes de crianças e adolescentes foi estimada em 30,4%, com alta heterogeneidade entre os estudos. Além disso, foi observado que a escolha correta de um índice clínico para a detecção de erosão dentária e a localização geográfica

desempenham um papel importante na grande variabilidade observada (SALAS et al., 2015).

Em contraste com a cárie dentária, a idade deve ser considerada para julgar se uma lesão é realmente patológica. Uma lesão em dentina pode ser interpretada como patológica em um adolescente, enquanto uma lesão com as mesmas características em idades mais avançadas pode ser considerada um desgaste normal ao longo da vida do indivíduo (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001).

O aumento da prevalência em função do aumento da idade tem sido evidenciado em alguns levantamentos (BARTLETT et al., 1998; GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001; EL AIDI; BRONKHORST; TRUIN, 2008; GURGEL et al., 2011a). Em um estudo realizado na Inglaterra que avaliou as mesmas crianças nas idades de 12 e 14 anos encontrou-se essa mesma tendência, com prevalência de 56,3% aos 12 anos, aumentando para 64,1% aos 14 anos (DUGMORE; ROCK, 2003).

No estudo de prevalência da erosão dentária em crianças islandesas conduzido por Arnadottir et al. (2010) não foi constatada erosão em dentes permanentes de crianças aos seis anos de idade, no entanto, entre aquelas com doze anos, a erosão foi frequente (15,7%) e a prevalência dobrou aos quinze anos (30,7%).

A prevalência de erosão dentária em crianças alemãs de 2 a 7 anos de idade no estudo de Wiegand et al. (2006) foi de 32%, sendo crescente em função da idade. Os dentes mais afetados foram os incisivos centrais e laterais, seguidos por caninos e molares decíduos superiores. Para a mandíbula, os caninos e molares foram mais afetados que os incisivos. Possivelmente, a razão para o maior acometimento dos incisivos superiores seja pelo fato de irromperem primeiro, e, portanto, permanecerem mais tempo expostos aos desafios erosivos. Além disso, a localização dos incisivos e caninos na arcada torna-os predispostos a erosão por vias extrínsecas, como as bebidas ácidas. Para os dentes inferiores, uma possível razão para o menor envolvimento dos incisivos seria o efeito protetor da superfície interna dos lábios, além do potencial de neutralização da saliva excretada pelas glândulas submandibular e sublingual. Devido à erupção tardia dos molares, o desgaste erosivo nesses dentes foi nitidamente menor.

A literatura aponta uma tendência de meninos apresentarem mais erosão do que meninas (MILOSEVIC; YOUNG; LENNON, 1994; AL-DLAIGAN; SHAW; SMITH,

2001; DUGMORE; ROCK, 2003; LUO et al., 2005; DUGMORE; ROCK, 2004b; TRUIN et al., 2004; AUAD et al., 2007; ABU-GHAZALEH; BURNSIDE; MILOSEVIC, 2013). Poucos estudos (KUNZEL; CRUZ; FISCHER, 2000; WANG et al., 2010), no entanto, encontraram maior risco para erosão dentária entre meninas, ao passo que alguns outros levantamentos não apontaram diferença entre os gêneros (BARTLETT et al., 1998; PERES et al., 2005; CORRER et al., 2009).

Os indivíduos apresentam riscos distintos de desenvolvimento de erosão dentária dependendo do histórico, comportamento, dieta e variáveis de ordem médica (SCHLUETER, TVEIT, 2014).

Dentre os diferentes fatores envolvidos, o nível sócio econômico tem sido apontado como uma condição associada à ocorrência de erosão dentária (MILLWARD; SHAW; SMITH, 1994), quando diferenças entre hábitos dietéticos e práticas de higiene existem entre distintas classes sociais (GURGEL et al., 2011b). Contudo, a relação entre a presença de erosão dentária e o nível sócio econômico é controversa. Enquanto alguns estudos encontraram que crianças com baixo nível sócio econômico apresentam maiores índices de erosão dentária (AL-DLAIGAN; SHAW; SMITH, 2001; HARDING et al., 2003; EL AIDI; BRONKHORST; TRUIN, 2008; EL AIDI et al., 2010) outros relataram o oposto (MILLWARD; SHAW; SMITH, 1994; VAN RIJKOM et al., 2002; BARDSLEY; TAYLOR; MILOSEVIC, 2004). Em alguns levantamentos não se identificou associação significativa entre a prevalência de erosão e o nível sócio econômico (DUGMORE ROCK, 2004b; GURGEL et al., 2011b; MURAKAMI et al., 2011).

A prevalência e as características da erosão também variam em função do tipo de dentição. Estudo realizado por Ganns, Klimek e Giese (2001) constatou que para dentes decíduos, 70,6% dos indivíduos apresentavam pelo menos um dente com erosão inicial (grau 1 - concavidades pouco profundas em menos de um terço da superfície vestibular e pequenas cavidades e cúspides ligeiramente arredondados, fissuras achatadas com morfologia da superfície oclusal preservada) e 26,4% com erosão grau 2 (concavidades pouco profundas ou profundas em mais do que um terço da superfície vestibular e depressão das cúspides com escavação acentuada, margens da restauração elevadas acima do nível dente envolvido, morfologia da superfície oclusal planificada). Nos dentes permanentes, 11,6% dos indivíduos tinham pelo menos um dente com erosão grau 1 e 0,2% tinham pelo

menos um dente com erosão grau 2. A observação longitudinal revelou que indivíduos com lesões erosivas na dentição decídua apresentaram um risco significativamente aumentado de erosão nos dentes permanentes ($p < 0,001$).

No estudo desenvolvido por Jarvinen, Rytomaa e Heinonen (1991) acerca dos fatores de risco para erosão dentária, foi constatado não haver diferença na duração de consumo de alimentos ácidos entre aqueles com e sem erosão, no entanto, a frequência de ingestão foi bem maior para os indivíduos que apresentavam lesões erosivas.

Entre crianças inglesas de 12 anos de idade um levantamento de erosão dentária identificou que indivíduos com experiência de cárie apresentaram maior prevalência de erosão, condição que foi interpretada como reflexo de um baixo nível de cuidado com a dieta. Aos 12 anos, pode ser que indivíduos que não conseguem cuidar dos seus dentes, mantendo uma dieta cariogênica, também mantenham uma dieta potencialmente erosiva (DUGMORE; ROCK, 2004a).

No estudo conduzido por Luo et al. (2005) 5,7% das crianças chinesas avaliadas entre 3 e 5 anos de idade apresentaram erosão em incisivos superiores. A prevalência de erosão em crianças cujos pais apresentavam educação superior foi duas vezes maior em relação aos filhos de pais que tinham educação básica. Da mesma forma, houve maior prevalência em crianças de mães com maior nível de educação.

Para crianças entre 12 e 13 anos de idade da região sul da China, Wang et al. (2010) encontraram 27,3% de indivíduos com pelo menos uma superfície dentária com sinais de erosão. Os resultados da análise de regressão logística demonstraram que crianças que consumiam bebidas carbonatadas uma ou mais vezes por semana e cujas mães foram educadas em nível primário tenderam a ter mais erosão dentária. Não houve diferença na prevalência de erosão entre crianças residentes em regiões urbanas e suburbanas, assim como não houve associação significativa entre a erosão e os hábitos de higiene, saúde geral e ingestão de suplementos de vitamina C.

Um estudo acerca dos fatores de risco para o desgaste dentário erosivo em pré-escolares brasileiros (3-4 anos) encontrou prevalência de 51,6% de desgaste erosivo, havendo associação significativa entre o desgaste e a ingestão de

refrigerantes de duas a três vezes ao dia e relato de refluxo esofágico frequente (MURAKAMI et al., 2011).

El Aidi et al. (2011) realizaram uma análise multifatorial de fatores associados à incidência e progressão do desgaste dentário erosivo através de um exame clínico (inicial, após 1,5 ano e 3 anos) e de questionários aplicados semi-anualmente. Os autores demonstraram que para crianças livres de erosão no exame inicial, 24,4% desenvolveram desgaste erosivo no segundo exame e em 68,9% desses casos houve progressão da condição. Foi encontrada associação significativa entre a incidência do desgaste erosivo e o consumo de bebidas alcoólicas, consumo de vegetais ácidos e o bruxismo. Para esse estudo, o consumo de vitaminas influenciou a progressão do desgaste, no entanto, a ingestão de iogurtes foi negativamente associada à incidência do desgaste erosivo.

Um estudo conduzido em clínica privada na cidade de São Paulo, SP, Brasil, aponta uma prevalência de erosão dentária de 25,43% entre indivíduos de 2 a 20 anos de idade. Os fatores associados reportados foram o consumo frequente de refrigerantes, doces e frutas, enquanto que o consumo de leite foi associado à baixa prevalência de erosão dentária (NAHAS PIRES CORREA et al., 2011).

Tao et al. (2015) ao avaliarem crianças de 3 a 6 anos de idade em Shangai, na China, constataram que a erosão teve prevalência de 15,1% e foi influenciada por hábitos de consumo de vinagre, café e chá, experiência educacional das mães das crianças, local de nascimento e ocorrência de regurgitação. Para indivíduos mais velhos, o estudo de Kirthiga et al (2015) reportou uma prevalência geral de 1,4% para crianças e adolescentes de 11 a 16 anos, sendo encontrada significância estatística para o tipo de escola, com maior prevalência de erosão em crianças de escolas públicas (2,1%) em relação as de escola privada (0,7%).

2.3 Prevenção e controle da erosão dentária

A erosão dentária é uma condição multifatorial, logo, para prevenir e controlar sua progressão, é importante detectá-la o mais precocemente possível. O conhecimento abrangente dos diferentes fatores de risco é um pré-requisito para iniciar medidas preventivas adequadas (não interventivas) e, se necessário, terapêuticas (interventivas) (LUSSI; JAEGGI, 2008).

A lesão erosiva em estágios iniciais normalmente não requer tratamento adicional se o agente causador for eliminado ou a perda de substância detida por medidas profiláticas (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001). Quando uma restauração se tornar inevitável, os preparos devem seguir os princípios de tratamento minimamente invasivo (LUSSI; JAEGGI, 2008), como resultado do aprimoramento das resinas compostas restauradoras e nas técnicas adesivas (PEUTZFELDT, JAEGGI, LUSSI, 2014). No entanto, semelhante ao que ocorre para a doença cárie, o procedimento restaurador não é o tratamento da condição.

Um programa preventivo e de controle proposto por Serra, Messias e Turssi (2009) inclui: o tratamento da desordem ou doença gastrointestinal, caso esta seja a etiologia da erosão dentária, através do encaminhamento para o médico especialista (AMAECHI; HIGHAM, 2005); redução dos desafios erosivos e aprimoramento das defesas salivares, dentre outras formas conseguidas pelo uso de goma de mascar após as refeições (LUSSI et al., 2009); neutralização do ácido, por exemplo através do bochecho de bicarbonato de sódio após os desafios (AMAECHI; HIGHAM, 2005); aumento do potencial remineralizador, pelo uso do fluoreto (ATTIN; ZIRKEL; HELLWIG, 1998; PASSOS et al., 2010; ALTINOK et al., 2011; HOVE et al., 2011; MAGALHÃES et al., 2011) ou da caseína/ fosfato de cálcio (SHEN et al., 2001; IJIMA et al., 2004; LENNON et al., 2006; KUMAR; ITTHAGARUN; KING, 2008); uso de dispositivos bucais protetores (AMAECHI; HIGHAM, 2005) durante desafios erosivos, durante a noite ou em episódios de vômitos voluntários; e por fim, diminuição os fatores de desgaste associados, aguardando pelo menos uma hora para escovar os dentes, após um desafio erosivo (JAEGGI; LUSSI, 1999; ATTIN, BUCHALLA, PUTZ, 2001; ATTIN et al., 2001; RIOS et al., 2006a) e sempre com cuidado de escovar delicadamente os dentes, usando uma escova macia e dentífrício com baixa abrasividade (IMFELD, 1996).

Em Cariologia, a inibição da desmineralização do esmalte com fluoretos tem sido estudada em muitas combinações de condições desmineralizadoras e concentrações de fluoretos (TEN CATE; DUIJSTERS, 1983). O fluoreto tem sido reconhecido por aumentar a remineralização e reduzir a desmineralização do esmalte em meio ácido, especialmente, em condições cariogênicas (DUCKWORTH, 1993; LAGERWEIJ). Isso ocorre em função do efeito da difusão dos íons de flúor no interior do esmalte subsuperficial e de sua aderência na superfície dos cristais de

hidroxiapatita, além da presença do fluoreto no fluido da placa, que aumenta a supersaturação e acelera a remineralização em pH acima de 4,5 (BUZALAF et al., 2011).

Uma vez que o fluoreto é capaz de reduzir a cárie, a sua aplicação para evitar a perda erosiva de esmalte tem sido sugerida (BARTLETT; SMITH; WILSON, 1994). Pesquisas avaliaram a aplicação de diferentes tipos de fluoretos em condições erosivas, dentre eles, o fluoreto de amina (WEGEHAUPT et al., 2009), fluoreto de sódio (GANSS et al., 2008), monofluorofosfato (KATO et al., 2010), tetrafluoreto de titânio (WIEGAND et al., 2008; VIEIRA et al., 2011; WIEGAND; MAGALHÃES; ATTIN, 2010; MAGALHÃES et al., 2012) e fluoreto estanhoso (GANSS et al., 2010; HUYSMANS et al., 2011). No entanto, o seu efeito protetor sobre a erosão ainda permanece em debate (LARSEN, 2001; MAGALHÃES et al., 2011).

O mecanismo de ação dos fluoretos em erosão parece decorrer da formação de uma barreira mecânica por meio da deposição de fluoreto de cálcio na superfície dentária (MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008). A quantidade de fluoreto de cálcio formado é diretamente relacionada à sua concentração, tempo de exposição e menor pH do meio, sendo que a sua dissolução em condições erosivas, temporariamente protege o esmalte subjacente (SAXEGAARD; ROLLA, 1988; GANSS et al., 2004). Além da barreira mecânica, quando do uso de fluoretos de metais polivalentes um revestimento ácido resistente rico em metais precipita sobre a superfície (SCHLUETER et al., 2009; GANSS et al. 2010). De acordo com Magalhães, Rios e Buzalaf (2008), na presença de fluoreto suficiente no meio bucal haverá a formação de hidroxiapatita fluoretada, tornando o esmalte menos solúvel aos próximos desafios ácidos. Contudo, caso a remineralização seja seguida de um novo desafio ácido severo, mesmo a hidroxiapatita fluoretada sendo mais resistente pode ser solubilizada, resultando em erosão dentária. Assim sendo, independentemente do mecanismo de atuação, e em função da curta duração da proteção oferecida existe a necessidade de aplicação frequente do agente preventivo e diferentes veículos podem ser utilizados para a aplicação. Para uso domiciliar, o uso de pastas e enxaguatórios são os mais comuns, usualmente em concentrações iguais ou inferiores a 1500 ppm. Para uso profissional, soluções, géis e vernizes podem ser empregados, geralmente em altas concentrações, acima de 1,25% (HUYSMANS, YOUNG, GANNS 2014).

Nos últimos anos, diferentes agentes têm sido discutidos como potenciais alternativas ao uso do fluoreto para prevenção e controle da erosão. Estes recursos baseiam-se (1) na formação de camada protetora contra o ácido na superfície do esmalte, como o uso de adesivos, selantes ou produtos que contenham polímeros como ovalbumina, caseína, pectina ou alginato como ingredientes ativos; (2) na potencialização dos mecanismos de precipitação mineral e/ou (3) na preservação da matriz orgânica da dentina (BUZALAF, MAGALHÃES, WIEGAND, 2014).

A maioria das abordagens preventivas, no entanto, baseiam-se em substâncias aplicadas sobre o tecido afetado, esmalte ou dentina (WEGEHAUPT et al., 2011). Todavia, a erosão de origem extrínseca, é geralmente decorrente do contato de uma bebida ácida com o tecido dental duro (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004), de modo que a prevenção da erosão pela modificação de substâncias erosivas, principalmente bebidas ácidas, pode ser uma medida viável (WEGEHAUPT et al., 2011).

O potencial erosivo de uma bebida é determinado pelo pH, quantidade de acidez titulável e pela concentração de cálcio, fosfato e flúor (LUSSI et al., 2009). Por razões toxicológicas, não é possível adicionar fluoretos em quantidade suficiente para reduzir significativamente o potencial erosivo de uma bebida (LARSEN; RICHARDS, 2002). Outros aditivos como o fosfato monocalcico, fosfato de sódio (REUSSNER; COCCODRILLI; THIESSEN, 1975), polifosfato (HOOPER et al., 2007), caseína/ fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) (RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; FERRAZZANO et al., 2012), diferentes combinações de íons (Ca, Fe, P e F) (ATTIN et al., 2005; MAGALHÃES et al., 2009a) e proteínas como ovalbumina (HEMINGWAY et al., 2008) foram testados e as bebidas modificadas apresentaram um menor potencial erosivo em comparação com as bebidas não modificadas. No entanto, os aditivos podem modificar as características das bebidas, resultando em alteração no seu paladar (LUSSI; JAEGGI; SCHAFFNER, 2004).

Por outro lado, a saliva humana, naturalmente presente na cavidade bucal, apresenta a capacidade de proteger o esmalte contra desafios erosivos, através da ação de limpeza e capacidade tampão e pela formação da película adquirida na superfície dentária (LENDENMANN; GROGAN; OPPENHEIM, 2000; HANNIG et al., 2009). Esse filme orgânico, composto por proteínas salivares e glicoproteínas funciona como uma barreira à difusão, prevenindo o contato direto do ácido com o

dente (CHEAIB; LUSI, 2011). Assim sendo, em condições erosivas, a saliva é capaz de melhorar a remineralização e minimizar o desgaste da superfície pela subsequente escovação dentária (JAEGGI; LUSI, 1999; HALL et al., 1999; HARA et al., 2003).

O estudo *in situ* conduzido por Rios et al. (2006b) objetivou avaliar se o estímulo salivar promovido pela goma de mascar poderia reduzir ou prevenir o desgaste erosivo associado à abrasão do esmalte. Os voluntários imergiam o dispositivo palatino contendo espécimes de esmalte humano e bovino em refrigerante tipo cola durante 5 min, 4 vezes ao dia. Na primeira fase do estudo, nenhum tratamento foi realizado após o desafio ácido e em metade dos espécimes era realizada a escovação imediata com dentífrico fluoretado e o aparelho era recolocado na boca, após 60 min os outros espécimes também eram escovados. Na segunda fase do estudo os procedimentos se repetiram e após o desafio ácido os voluntários estimulavam o fluxo salivar através de uma goma de mascar sem açúcar durante 30 minutos. Terminada a etapa *in situ* os espécimes foram avaliados pela dureza superficial e perfilometria e os resultados sugeriram que o estímulo do fluxo salivar pelo uso de goma de mascar e a escovação após 1 hora do desafio erosivo podem reduzir o desgaste dentário.

O hábito de mascar chiclete sem açúcares cariogênicos, cada vez mais popular, tem sido promovido pelos dentistas como sendo benéfico para a dentição na redução do risco de cárie (EDGAR, 1998). Além disso, pesquisas médicas e odontológicas têm considerado o benefício da goma de mascar como um meio para empregar agentes terapêuticos: por exemplo, carbonato de cálcio para aliviar a azia e o refluxo gastro-esofágico (COLLINGS et al., 2002), clorexidina para reduzir a adesão do biofilme à superfície dentária (IMFELD, 1999) e a caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo para remineralização de lesões de subsuperfície (SHEN et al., 2001; IJIMA et al., 2004; ITTHAGARUN et al., 2005; MORGAN et al. 2008; COCHRANE et al., 2012).

2.4 A caseína e o CPP-ACP

Produtos lácteos, como leite e queijo, são conhecidos como alimentos protetores contra a desmineralização dentária, devido à presença da proteína caseína (SCHUPBACH et al., 1996; SREEBNY, 2000).

O leite bovino contém duas frações proteicas principais: as proteínas do soro e os caseínatos (KITTS, 2006). A caseína (do grego *caseus*, significa queijo) é o nome coletivo para os caseínatos, que compreendem de 70 a 80% do conteúdo total de proteínas do leite (SWAISGOOD, 2006). Ela consiste de três subfrações, α -, β - e κ -caseína, na proporção de 8:6:1 (COULTATE, 2002). A principal função fisiológica das caseínas do leite é estabilizar o fosfato de cálcio formando micelas (BARBOUR et al., 2008).

A caseína apresenta efeito remineralizador do esmalte, tornando a estrutura mineral do dente mais resistente e menos solúvel ao ataque ácido (IJIMA et al., 2004). Esse efeito ocorre, pois enzimas presentes na cavidade bucal, geralmente a tripsina (FITZGERALD, 1998) produzem peptídeos a partir da caseína, formando fosfopeptídeos de caseína (CPP), contendo a sequência de agrupamento - Ser (P) - Ser (P) - Ser (P) - Glu - Glu, que têm a notável capacidade de estabilizar o cálcio e o fosfato, mantendo-os numa condição amorfa ou solúvel, conhecida como fosfato de cálcio amorfo (ACP), fornecendo um reservatório de íons durante o ataque cariogênico (REYNOLDS, 1998; SHEN, 2001; REYNOLDS et al., 2003; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2012). Esses peptídeos de caseína estabilizados por fosfato de cálcio amorfo têm sido descritos como possíveis precursores da hidroxiapatita (BOSKEY; POSNER, 1973; SKRTIC et al., 2003).

Assim, o mecanismo anti-cariogênico proposto para o CPP-ACP é o acúmulo do ACP sobre a estrutura dentária, mantendo os íons livres de cálcio e fosfato em um estado de supersaturação em relação ao esmalte, diminuindo a desmineralização e aumentando a remineralização (YAMAGUCHI et al., 2006; YAMAGUCHI et al., 2007), resultando em um esmalte mais resistente aos ataques ácidos (ITTHAGARUN et al., 2005).

O efeito anti-cariogênico do CPP-ACP tem sido demonstrado na literatura (REYNOLDS, 1997; ROSE, 2000; SHEN et al., 2001, CAI et al., 2003; IJIMA et al., 2004; WALKER et al., 2006, COCHRANE et al., 2008; KUMAR et al., 2008; MORGAN et al., 2008; RAO et al., 2009; REYNOLDS, 2009; ROBERTSON et al., 2011; ZHANG et al., 2011; COCHRANE et al., 2012). Atualmente esse composto tem sido incluído em vários produtos para higiene bucal, uma vez que a atuação desse complexo como um veículo de transporte de cálcio e fosfato para a superfície dentária e a sua deposição no biofilme e película salivar são bem compreendidos

(REYNOLDS, 2009). Assim sendo, os produtos são comercializados com o intuito de potencializar a remineralização, devido à baixa constante de dissociação de cálcio e fosfato, estabilização do fosfato de cálcio em solução e ação biomineralizadora promovida pelo crescimento dos cristais minerais na superfície dentária (CROSS et al., 2007; NONGONIERMA, FITZGERALD, 2012), de modo que o mecanismo anticariogênico do CPP-ACP tem sido atribuído à inibição da desmineralização e a potencialização da remineralização pela difusão dos minerais na superfície e na corpo da lesão de subsuperfície (COCHRANE et al., 2008; REYNOLDS et al., 2008).

Kumar, Itthagaran e King (2008) avaliaram o efeito remineralizador do CPP-ACP *in vitro* e tendo um dentifrício fluoretado como controle positivo, concluíram que CPP-ACP contido em um mousse foi capaz de remineralizar lesões iniciais de cárie em esmalte e esse potencial foi ainda maior quando esse produto remineralizador foi aplicado como um revestimento tópico após o uso de um creme dental fluoretado.

Rao et al. (2009) realizaram um estudo clínico para avaliar a eficácia de uma pasta com CPP-ACP na prevenção de cárie em escolares. A pesquisa foi conduzida com 150 crianças divididas randomicamente em três grupos: 1. Pasta com 2% de CPP-ACP; 2. Pasta com 1,190 mg/Kg de flúor sendo 0,76% de monofluorofosfato de sódio; 3. Pasta placebo sem CPP-ACP ou flúor. Os estudantes utilizaram as pastas fornecidas durante 24 meses. A higiene bucal e a experiência de cárie foram avaliadas no momento inicial, aos 12 meses e 24 meses. Significativa redução de cárie foi observada entre os estudantes que utilizaram a pasta de CPP-ACP ou flúor, comparado àquelas que utilizaram a pasta placebo. Além disso, não houve diferença no incremento à cárie entre os grupos CPP-ACP e flúor.

Quando contido em gomas de mascar, o CPP-ACP tem demonstrado potencial de remineralizar lesões de subsuperfície, independentemente da frequência e duração do uso (SCHUPBACH et al., 1996; SWAISGOOD, 1996; FITZGERALD, 1998; REYNOLDS, 1998; SREEBNY, 2000; SHEN et al., 2001; COULTATE, 2002; IJIMA et al., 2004; KITTS, 2006; BARBOUR et al., 2008). Além disso, o esmalte remineralizado geralmente se torna mais resistente à desmineralização do que o esmalte não tratado (IJIMA et al., 2004).

O estudo conduzido por Shen et al. (2001) objetivou avaliar a capacidade *in situ* do CPP-ACP contido em goma de mascar sem açúcar (adoçada por xilitol ou sorbitol) de remineralizar lesões de subsuperfície, em relação ao grupo controle

(goma de mascar sem CPP-ACP). Para tanto, trinta indivíduos usaram dispositivos palatinos com espécimes de esmalte humano com lesões desmineralizadas de subsuperfície. Os aparelhos eram inseridos imediatamente antes do uso da goma de mascar por 20 minutos e permaneciam na boca por mais 20 minutos. Esse procedimento foi repetido 4 vezes por dia, durante 14 dias, para cada fase. Ao término de cada tratamento, os espécimes foram submetidos à microradiografia e à análise de imagens densitométricas, para a medição do nível de remineralização. A goma de mascar contendo 56,4 mg de CPP-ACP aumentou a remineralização em 159% em relação ao grupo controle. Os autores concluíram mediante os resultados que a adição de CPP-ACP tanto à goma adoçada com xilitol quanto àquela contendo sorbitol resultou em um aumento dose-dependente da remineralização do esmalte.

Iijima et al. (2004) investigaram a resistência a ácidos em lesões de esmalte remineralizadas *in situ* por uma goma de mascar sem açúcar contendo 18,8 mg de caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP: Recaldent™), em relação a uma goma de mascar sem o CPP-ACP. Os voluntários utilizaram os dispositivos palatinos com os espécimes de esmalte humano contendo lesões desmineralizadas de subsuperfície e a goma era mascarada durante 20 minutos, 4 vezes ao dia, por 14 dias. Após cada tratamento, os espécimes foram removidos e metade de cada um deles passou por um desafio ácido *in vitro* de 8 ou 16 horas. O nível de remineralização foi avaliado através de microradiografia. A goma contendo CPP-ACP produziu aproximadamente o dobro do nível de remineralização em relação ao controle. O desafio ácido de 8 e 16 horas das lesões remineralizadas com a goma controle resultaram em 65,4 e 88,0% de reduções do depósito mineral, respectivamente, enquanto que para as lesões remineralizadas pelo CPP-ACP as reduções correspondentes foram de 30,5 e 41,8%. O desafio ácido após remineralização *in situ* pela goma controle e pela goma contendo CPP-ACP resultou em desmineralização abaixo da zona remineralizada, indicando que o mineral remineralizado é mais resistente aos desafios ácidos subsequentes.

Morgan et al. (2008) avaliaram a progressão ou regressão de lesões de cárie proximais em adolescentes mediante o uso de gomas de mascar sem açúcar contendo 54 mg de CPP-ACP comparado a uma goma de mascar com as mesmas características, porém sem o CPP-ACP. Os 2720 sujeitos da pesquisa foram randomizados entre os dois grupos e durante os 24 meses do estudo realizaram um

regime de uso da goma de mascar três vezes ao dia (10 min cada), das quais uma sessão era supervisionada nos dias de aula. Radiografias interproximais digitais padronizadas foram tomadas no momento inicial e após 24 meses de estudo. A análise dos dados demonstrou haver diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($OR = 0,82$, $p = 0,03$). Para os sujeitos pertencentes ao grupo do CPP-ACP a chance de uma superfície sofrer progressão da cárie foi 18% menor se comparado ao grupo controle. Assim sendo, os autores concluíram que a goma de mascar contendo 54 mg de CPP-ACP utilizada mediante o referido protocolo foi capaz de retardar a progressão e acelerar a regressão de lesões de cárie proximais nesse ensaio clínico de 24 meses.

Cochrane et al. (2012) realizaram um estudo *in situ* duplo cego, randomizado e cruzado para comparar a remineralização do esmalte por goma de mascar sem açúcar, com ou sem CPP-ACP em que as lesões de esmalte foram expostas a ingestão alimentar e algumas foram cobertas com gaze para promover a formação de placa. O conteúdo mineral foi avaliado através de microradiografia transversal e constatou-se que houve uma tendência de ocorrer menor remineralização e maior variação no conteúdo mineral para as lesões cobertas com gaze. A maior quantidade de remineralização foi produzida pela goma de mascar contendo CPP-ACP, seguida da goma sem CPP-ACP e pelo o controle negativo (sem goma de mascar).

2.5 O CPP-ACP na erosão dentária

Devido ao seu papel como agente remineralizador na prevenção da cárie dentária, recentes estudos têm avaliado a caseína fosfopeptídea de cálcio amorfo (CPP-ACP) na proteção dos dentes contra a erosão (LENNON et al., 2006; REES; LOYN; CHADWICK, 2007; PIEKARZ et al., 2008; RANJITKAR et al., 2009a; RANJITKAR et al., 2009b; POGGIO et al., 2009; POGGIO et al., 2013).

O mecanismo pelo qual o CPP-ACP reduz a erosão dentária pode ser diferente daquele que ocorre para lesões de cárie não-cavidades, devido às diferentes características estruturais das lesões de cárie e erosão. Para as lesões incipientes de cárie, a camada superficial que recobre a lesão subsuperficial é rica em minerais, sendo relativamente intacta e porosa. Esses poros são pelo menos parcialmente preenchidos com materiais orgânicos e fornecem passagem para as

soluções ou agentes externos manterem contato com tecidos mais profundos (ARENDS; CHRISTOFFERSEN, 1986). Para as lesões erosivas, a perda de íons cálcio e fosfato causada por ácidos extrínsecos ou intrínsecos resulta em uma camada superficial amolecida. Com o colapso dos cristais de apatita amolecidos, uma camada de minerais do dente é removida podendo ser concebível que os materiais anti-erosão reajam diretamente com a superfície do dente erodido (WANG et al., 2011).

Yamaguchi et al. (2007) sugeriram que o CPP-ACP pode exercer efeito protetor sobre a erosão dentária suprimindo a desmineralização, aumentando a remineralização ou atuando na combinação desses dois processos. Cada molécula de CPP-ACP pode agrupar até 25 íons de cálcio, 15 de fosfato e 5 de flúor, estabilizando-se na saliva (REYNOLDS et al., 2003).

Assim, o efeito protetor do CPP-ACP tem sido constatado em estudos prévios (RANJITKAR et al., 2009a; RANJITKAR et al., 2009b; PANICH; POOLTHONG, 2009; SRINIVASAN; KAVITHA; LOGANATHAN, 2010), provavelmente por meio da remineralização pelo depósito de mineral na zona de superfície porosa do esmalte erodido (TANTBIROJN et al., 2008).

Em princípio, existem duas formas de utilização do CPP-ACP para a prevenção da erosão: os agentes são adicionados a uma solução erosiva, ou são aplicados diretamente à superfície dos dentes para formar uma camada protetora inibindo a desmineralização erosiva (LUSSI; JAEGGI; SCHAFFNER, 2004).

Ramalingam et al. (2005) avaliaram a adição de quatro diferentes concentrações (0,063%, 0,09%, 0,125%, 0,25%) de CPP-ACP à uma bebida esportiva (Powerade®) no que se refere à proteção contra a erosão *in vitro* e constataram que a adição de CPP-ACP promoveu o aumento do pH e a diminuição da acidez titulável das bebidas testadas. Houve significativa redução da erosividade das bebidas modificadas, exceto na concentração mínima de 0,063%. Adicionalmente, não foi possível distinguir o sabor do Powerade® não modificado do Powerade® acrescido de 0,125% de CPP-ACP.

Manton et al. (2010) avaliaram através de um estudo *in vitro* o efeito erosivo de quatro diferentes refrigerantes em que se adicionou 0,2% de CPP-ACP e constataram que para todas as bebidas houve redução significativa do desgaste erosivo. No entanto, existem limitações na aplicabilidade desse recurso preventivo,

uma vez que é impossível modificar quimicamente todas as soluções erosivas. Além disso, o gosto pode ser afetado (LUSSI; JAEGGI; SCHAFFNER, 2004).

Outra alternativa seria o uso de pastas de CPP-ACP diretamente sobre lesões de erosão, cuja eficácia foi avaliada em diversos estudos (LENNON et al., 2006; REES; LOYN; CHADWICK, 2007; PIEKARZ et al., 2008; RANJITKAR et al., 2009a; RANJITKAR et al., 2009b; POGGIO et al., 2009; POGGIO et al., 2013).

Lennon et al. (2006) compararam o efeito da caseína, da caseína associada ao flúor e do flúor isoladamente sobre a erosão em esmalte bovino. Os dentes foram submetidos ao desafio erosivo com ácido cítrico a 1% (pH 2,3) por 30 segundos, 6 vezes ao dia, durante 14 dias. Os dentes foram divididos em 5 grupos de acordo com o tratamento: G1 - sem tratamento; G2 - pasta de caseína aplicada por 120 segundos, 2 vezes ao dia; G3 - Fluoreto de sódio a 250 ppm aplicado 2 vezes ao dia; G4 - pasta de caseína aplicada por 120 segundos 2 vezes ao dia seguido de NaF a 250 ppm aplicado por 120 segundos 2 vezes ao dia e G5 - fluoreto de amina (AmF) em gel a 12.550 ppm aplicado por 120 segundos 2 vezes ao dia. A média da perda de esmalte foi mensurada através da perfilometria após 7 e 14 dias. O grupo tratado com o gel de AmF apresentou uma menor perda de tecido dentário se comparado ao grupo controle após 7 ($p=0,002$) e 14 dias ($p=0,002$). A perda de esmalte também foi significativamente menor no grupo do gel de AmF após 7 e 14 dias comparado a pasta de caseína, ao fluoreto de sódio e a pasta de caseína seguida da aplicação de fluoreto de sódio. Os autores concluíram, portanto, que o AmF em alta concentração pode proteger contra a erosão do esmalte, enquanto a pasta de CPP-ACP e o NaF fornecem pouca proteção se usados individualmente ou combinados.

Rees, Loyn e Chadwick (2007) avaliaram *in vitro* se uma única aplicação de duas diferentes pastas disponíveis comercialmente para pacientes com erosão dentária Proesmalte® e Tooth Mousse™ seria capaz de prevenir a erosão. A pasta Sensodyne Proesmalte® contém elevados níveis de fluoreto biodisponível e nitrato de potássio, que ajudam a controlar a sensibilidade dentinária. O produto denominado Tooth Mousse™ é um creme à base de água que contém CPP-ACP. No protocolo adotado pelos autores, amostras de dentes permanentes foram tratadas com as pastas por 15 minutos e o grupo controle permaneceu em água deionizada. Todos os espécimes foram expostos ao desafio ácido com 0,2% de

ácido cítrico por uma hora e a perda mineral foi avaliada por meio de perfilometria. A quantidade da perda mineral no grupo controle, grupo Proesmalte® e Tooth Mousse™ foi respectivamente de 5,02; 2,60 e 3,28 µm. Os resultados do grupo Proesmalte® e Tooth Mousse™ diferiram estatisticamente do grupo controle ($p<0,01$), não havendo diferença entre os dois tipos de tratamentos.

Piekarz et al. (2008) avaliaram a efetividade da pasta Tooth Mousse™ na redução da erosão em esmalte coronário e dentina radicular submetidos ao desafio erosivo com vinho branco ($\text{pH}=3,5$). Os espécimes foram submetidos a 1500 ciclos de exposição de um minuto no vinho, sendo que a pasta foi aplicada a cada 20 ciclos em um dos grupos experimentais. Foi constatado que a perda mineral foi significativamente menor no grupo da pasta Tooth Mousse™, tanto em esmalte quanto em dentina.

Poggio et al. (2009) avaliaram o efeito *in vitro* a pasta Tooth Mousse™ contra erosão dentária. Os tratamentos realizados em metade dos espécimes foram divididos em três grupos: 1. Desmineralização com refrigerantes (4 intervalos de 2 min); 2. Desmineralização com refrigerantes (4 intervalos de 2 min) + Tooth Mousse™; 3. Esmalte intacto + Tooth Mousse™. Nos grupos 2 e 3 a pasta foi aplicada por 3 min em 0, 8, 24 e 36 h. Entre os espécimes tratados nos grupos 1 e 2 houve uma diferença estatisticamente significativa e o tratamento das amostras com CPP-ACP apresentou um efeito protetor sobre a desmineralização do esmalte. O grupo 3 permaneceu intacto sem alteração da rugosidade ou ocorrência de desgaste.

O estudo conduzido por Ranjitkar et al. (2009a) objetivou determinar se o CPP-ACP poderia reduzir as taxas de desgaste do esmalte sob condições erosivas severas. O CPP-ACP na forma de uma pasta foi aplicado por 5 min no grupo experimental 1, uma outra pasta com a mesma formulação, mas sem o CPP-ACP foi aplicada no grupo experimental 2 e no grupo controle não foi aplicada nenhuma pasta. A avaliação quantitativa do desgaste do esmalte foi realizada por medição da redução do volume de amostras de esmalte através de perfilometria 3D (Pixa-41, Roland DG, Tóquio, Japão). As facetas de desgaste nos grupos experimentais 1 e 2 apresentaram-se mais suaves e mais polidas do que aquelas do grupo controle. O desgaste identificado para os grupos 1 e 2 foi significativamente menor em relação ao grupo controle e o grupo 1 menor que o grupo 2. Deste modo, concluíram que as

propriedades de remineralização e lubrificação da pasta de CPP-ACP parecem contribuir para redução do desgaste do esmalte.

Em outro estudo avaliou-se a redução no desgaste erosivo em esmalte e dentina envolvendo a abrasão pela escovação através do uso da pasta Tooth Mousse™. Espécimes planos e polidos de esmalte e dentina ($n = 72$) foram submetidos a 10 regimes de desgaste, com cada regime envolvendo a erosão em 0,3% de ácido cítrico (pH 3,2) por 10 min, seguido por abrasão por escovação em uma suspensão de pasta de dente sem flúor e saliva artificial, sob uma carga de 2N por 200 ciclos. Os espécimes foram imersos em saliva artificial por 2 h entre os regimes de desgaste. No grupo experimental 1 a pasta contendo CPP-ACP (TM) foi aplicada no início de cada episódio de desgaste por 5 min, enquanto a pasta sem CPP-ACP (TM-) foi aplicada no grupo experimental 2. Nenhuma pasta foi aplicada no grupo controle. Para o esmalte, a profundidade média de desgaste do grupo experimental 1 (TM) foi significativamente menor do que no grupo controle ($p < 0,001$). O desgaste em dentina do grupo experimental 1 (TM) foi significativamente menor do que os do grupo experimental 2 (TM-) ($p < 0,01$) e do grupo controle ($p < 0,001$). Assim sendo, os dados apontaram para uma redução do desgaste erosivo associado à abrasão por escovação através do uso do Tooth Mousse™ (RANJITKAR et al., 2009b).

Wegehaupt, Attin (2010) avaliaram o efeito de vários compostos fluoretados e do mousse de CPP-ACP na redução do desgaste dentário decorrente de erosão e abrasão. Amostras de esmalte bovino foram tratadas durante 2 minutos por dia de acordo com o grupo: gel de fluoreto de sódio/amina, gel de fluoreto de sódio, mousse de CPP-ACP. Ciclos de desmineralização e remineralização foram realizados por 20 dias, com 6 desafios erosivos de 20 segundos em ácido clorídrico (pH 3) por dia. As amostras permaneceram em saliva artificial entre os ciclos e durante a noite. A escovação foi realizada a cada dia, antes do primeiro e uma hora após a última exposição ao ácido. O desgaste dentário foi avaliado por perfilometria e os resultados mostraram que o desgaste pode ser significativamente reduzido em função do uso dos géis fluoretados, independentemente da composição, enquanto que a aplicação de CPP-ACP foi menos efetiva.

Srinivasan, Kavitha e Loganathan (2010) realizaram um estudo *in situ* para comparar o potencial de remineralização de pastas contendo CPP-ACP e CPP-ACP

com 900 ppm de flúor em esmalte humano frente ao desafio ácido promovido por uma bebida à base de cola. Foram utilizados três diferentes protocolos de remineralização: 1. CPP-ACP; 2. CPP-ACP com 900 ppm de flúor; 3. Saliva (grupo controle). O CPP-ACP, CPP-ACP com 900 ppm de flúor e a saliva resultaram em um aumento de 46,24%, 64,25% e 2,98% nos valores de dureza pós-erosão, respectivamente. O teste ANOVA a um critério revelou diferenças estatisticamente significativas nos valores médios de dureza entre pastas contendo CPP-ACP e CPP-ACP com 900 ppm de flúor. A análise dos resultados permitiu concluir que tanto o CPP-ACP quanto o CPP-ACP com 900 ppm de flúor remineralizaram substancialmente o esmalte amolecido, no entanto, o CPP-ACP combinado ao flúor aumentou o potencial de remineralização do CPP-ACP. Esse estudo confirmou o efeito sinérgico do fluoreto com o CPP-ACP sobre a remineralização do esmalte erodido.

Wang et al. (2011) conduziram um estudo *in vitro* para avaliar o efeito protetor contra a erosão promovido por duas diferentes marcas comerciais de pasta a base de NovaMin (fosfosilicato de sódio e cálcio) na concentração de 7,5%, do mousse de CPP-ACP a 10% e do mousse de CPP-ACP fluoretado a 10% + 900 ppm de fluoreto. As amostras de dentes humanos foram levadas a cavidade bucal para formação de película adquirida por 2 horas e submetidas à desmineralização em suco de laranja (pH 3,6) por 3 minutos e remineralização com os agentes testados também por 3 minutos, duas vezes por dia, durante 4 dias. Dois procedimentos foram realizados, aplicando-se os agentes anti-erosivos antes e após o ataque erosivo. A nanodureza de superfície foi avaliada após a formação da película e após o término do ciclo de tratamento e constatou-se que em ambos os procedimentos realizados, não houve diferença entre o grupo controle e os grupos estudados, de modo que a erosão não pode ser prevenida por nenhum dos três agentes, apesar do conteúdo de fluoreto presente.

Em função de possíveis divergências quando da aplicação de cremes ou soluções em estudos de erosão, Wegehaupt et al. (2012) avaliaram o efeito *in situ* da aplicação intra e extra-oral do creme de CPP-ACP e de uma solução fluoretada no reendurecimento do esmalte erodido pela imersão das amostras em refrigerante de limão light que em seguida foram levadas à boca por 5 minutos. O tratamento foi realizado com solução de fluoreto de estanho/amina a 250 ppm ou com o creme de

CPP-ACP com aplicação intra ou extraoral. A dureza superficial foi avaliada no início, após a erosão e após os tratamentos. Verificou-se que a aplicação intra-oral do creme de CPP-ACP ou da solução fluoretada não promoveram benefícios no reendurecimento da superfície amolecida.

Em recente estudo desenvolvido por Poggio et al. (2013) o efeito preventivo de uma pasta de CPP-ACP sobre a erosão produzida por refrigerante em esmalte e dentina de dentes humanos foi avaliado através de microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura. Os grupos avaliados foram: 1a dentina hígida, 1b dentina + refrigerante; 2a dentina hígida + pasta de CPP-ACP, 2b dentina + refrigerante + pasta de CPP-ACP; 3a esmalte hígido, 3b esmalte + refrigerante; 4a esmalte hígido + pasta de CPP-ACP, 4b esmalte + refrigerante + pasta de CPP-ACP. A pasta foi aplicada por 3 minutos a 0, 8, 24 e 36 horas. As imagens de microscopia foram obtidas e a análise estatística indicou diferença entre os grupos 1b e 2b e entre os grupos 3b e 4b sugerindo que o tratamento dos espécimes com a pasta de CPP-ACP promoveu efeito protetor na desmineralização, que foi mais evidente nos espécimes de esmalte.

Rallan et al. (2013) avaliaram o efeito remineralizador *in vitro* de pastas de CPP-ACP, CPP-ACPF e de pasta de fluoreto de sódio (1000ppm) em relação à saliva artificial como grupo controle. As amostras de dentes decíduos foram submetidas a 10 ciclos de imersão em refrigerante tipo cola e saliva artificial de 5 segundos cada. Após a erosão, uma fina camada das pastas foi aplicada sobre a superfície dos dentes, permanecendo por 3 minutos e seguido do armazenamento das amostras em saliva artificial por 8 horas. A dureza superficial Knoop foi avaliada no início, após a erosão e após a remineralização e constatou-se que a média da dureza foi significativamente maior no grupo referente a pasta a base de CPP-ACPF de modo que este recurso foi apontado pelos autores como o melhor potencial remineralizador.

Mais recentemente, Wiegand e Attin (2014) avaliaram o efeito do leite (com ou sem 5 ppm de F) e de pastas de CPP-ACP (com ou sem 900 ppm de F) na erosão do esmalte e da dentina através de um protocolo *in situ*, utilizando uma pasta sem flúor como controle negativo e uma solução fluoretada contendo cloreto de estanho, fluoreto de amina e fluoreto de sódio como controle positivo. Adicionalmente foi utilizada uma pasta fluoretada como outro grupo em estudo. Os

desafios foram realizados pela imersão em refrigerante, 6 vezes ao dia, por 90 segundos, durante 5 dias em cada fase. O leite foi utilizado duas vezes ao dia durante 2 minutos e as pastas durante 3 minutos por dia. Os resultados da perfilometria demonstraram que o uso de leite e das pastas de CPP-ACP não foram eficientes em reduzir a perda de esmalte e dentina, independentemente da presença de fluoreto.

Em se tratando do uso de goma de mascar como veículo para a disponibilização de CPP-ACP no ambiente bucal estudos prévios demonstraram haver a potencialização da precipitação mineral promovendo o reendurecimento de superfícies dentárias erodidas em relação à goma de mascar convencional (PRESTES et al., 2013; ALENCAR et al., 2014).

Alencar (2013) avaliou o efeito *in situ* de uma goma de mascar comercialmente disponível contendo CPP-ACP na erosão dentária e no desgaste dentário erosivo. Para a primeira etapa do estudo (capacidade remineralizadora) blocos de esmalte humano foram erodidos *in vitro* pela imersão em Coca Cola®, pH 2,4 por 3 min e distribuídos entre os grupos em estudo: GI Trident Fresh® (sem CPP-ACP), GII controle (sem goma de mascar) e GIII Trident Total® (com CPP-ACP). Doze voluntários utilizaram dispositivos intrabucais palatinos por 24 h em 3 fases cruzadas. Nas fases de GI e GIII os voluntários mascaram uma goma (30 min) e em todas as fases após 2h, a dureza foi avaliada (SHf1). Os blocos foram reposicionados e os dispositivos usados por mais 22 h (+ 3 ciclos de mastigação da goma correspondente - GI e GIII). A dureza foi reavaliada (SHf2) para cálculo do percentual de recuperação de dureza (%SHR) após 2 e 24h. Na segunda etapa do estudo (ciclagem erosiva) os blocos de esmalte hígidos foram aleatorizados entre os grupos (GI, GII e GIII) e 8 voluntários utilizaram dispositivos intrabucais palatinos em fases cruzadas de 7 dias cada (*washout* de 7 dias). O protocolo de ciclagem erosiva foi de 4 imersões diárias do dispositivo intrabucal em 150 ml de Coca Cola® durante 5 min. Nos grupos I e III após cada desafio erosivo e reinserção do dispositivo na cavidade bucal, os voluntários mascaram uma unidade da goma de mascar durante 30 min. A alteração da superfície do esmalte foi mensurada por perfilometria (μm). Os dados foram submetidos à ANOVA (2 critérios - etapa 1; 1 critério - etapa 2) e teste Tukey ($\alpha=0,05$). Os resultados da recuperação de dureza demonstraram haver diferença significativa entre os grupos e os tempos ($p<0,05$). O Trident Total® (2h =

50,0%; 24h = 95,9%) promoveu maior recuperação de dureza que o Trident Fresh® (2h= 30,0%; 24h= 71,1%) e o grupo controle (2h = 15,7%; 24h = 40,9%). No entanto, no desafio erosivo prolongado, apesar do Trident Total® ($5,2 \pm 2,8 \mu\text{m}$) e do Trident Fresh® ($3,8 \pm 1,5 \mu\text{m}$) terem reduzido significativamente o desgaste dentário em relação ao grupo controle ($6,8 \pm 3,5 \mu\text{m}$), não houve diferença significativa entre as gomas de mascar ($p > 0,05$). Concluiu-se, portanto, que o efeito remineralizador da saliva foi maior após utilização de goma de mascar, sendo significativamente aumentado em função do período de remineralização e pela presença de CPP-ACP na goma de mascar. Contudo, para o protocolo de desafio erosivo adotado, a goma de com CPP-ACP não demonstrou efeito protetor adicional em relação a goma de mascar convencional.

Diante do exposto, evidências sugerem que a eficácia do CPP-ACP permanece controversa na literatura, de modo que a avaliação do uso da goma de mascar previamente ao desafio erosivo se faz necessária como estratégia para permitir uma melhor compreensão do real mecanismo de atuação do CPP-ACP na erosão dentária.

Proposição

“

*Só há um tempo em que é fundamental
despertar. Esse tempo é agora.*

Buda

”

3. Proposição

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização de uma goma de mascar com caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao desafio erosivo inicial, utilizando teste de dureza superficial. Especificamente foi avaliado o efeito do uso prévio da goma de mascar com CPP-ACP, da goma de mascar convencional e da ação salivar não estimulada na inibição da erosão inicial do esmalte.

As hipóteses nulas consideradas foram as seguintes:

1. Não existe diferença na capacidade em inibir a desmineralização erosiva quando o fluxo salivar é estimulado por goma de mascar em relação ao fluxo salivar não estimulado.
2. Não há diferença na capacidade em inibir a desmineralização erosiva quando o fluxo salivar é estimulado por goma de mascar contendo CPP-ACP em relação à goma de mascar convencional sem CPP-ACP.

“

*Por mais longa que seja a caminhada o
mais importante é dar o primeiro passo.*

Vinícius de Moraes

”

Material e Métodos

4. Material e Métodos

4.1. ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo de pesquisa do presente estudo foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB/USP), recebendo parecer favorável (Anexo 1).

De acordo com a resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, os voluntários convidados a participar do estudo foram informados sobre os benefícios e riscos da pesquisa e somente participaram desta após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1).

4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este estudo *in situ* do tipo cruzado e cego (para pesquisador) envolveu um desenho aleatório sendo realizado em três períodos de duas horas, com intervalo de uma semana. O fator em estudo foi a estratégia preventiva contra a erosão avaliada em três níveis. Vinte voluntários utilizaram dispositivos de acrílico palatino contendo dois blocos de esmalte bovino em cada fase. Os blocos de esmalte bovino ($n = 120$) foram selecionados pela dureza superficial inicial (SH) e aleatoriamente distribuídos entre os três grupos, de acordo com os tipos de tratamentos:

GI - Esmalte exposto à saliva estimulada pela goma de mascar com CPP-ACP (Trident Total®);

GII - Esmalte exposto à saliva estimulada pela goma de mascar sem CPP-ACP (Trident® Fresh);

GIII - Esmalte exposto à saliva não estimulada (sem goma de mascar).

Os dois tipos de goma de mascar foram utilizados no sabor hortelã e a tabela 1 relaciona os ingredientes listados pelo fabricante.

Tabela 1. Constituintes principais das gomas de mascar avaliadas segundo informações do fabricante Trident, Cadbury Adams Indústria e Comércio, Bauru, São Paulo, Brasil.

Trident Fresh®	Trident Total®
Goma base	Goma base
Edulcorantes: Sorbitol, manitol, xilitol, maltitol, aspartame, acesulfame-k e sucralose	Edulcorantes: Sorbitol, maltitol, manitol, aspartame, acesulfame-k e sucralose
Aromatizantes	Aromatizantes
Umectante: Glicerina	Umectantes: Glicerina e triacetina
Emulsificante: Lecitina de soja	Emulsificante: Lecitina de soja
Corantes: Dióxido de titânio, azul patente V, antocianinas e azul brilhante FCF	Corantes: Dióxido de titânio, azul brilhante FCF
	Espessante: Goma arábica
	Glaceante: Cera de carnaúba
	Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (Recaldent®)

Nas fases de GI e GII os voluntários usaram dispositivos intrabucais palatinos contendo dois blocos de esmalte, durante 120 minutos e mascaram uma unidade da goma de mascar correspondente ao grupo nos últimos 30 minutos. No grupo controle os voluntários usaram o dispositivo intrabucal por 120 minutos, sem uso de goma de mascar. Em cada fase, imediatamente após a utilização os dispositivos intrabucais foram imersos em refrigerante tipo cola (Coca Cola® (pH 2,4, 0,32 ppm F, Marília, SP, Brasil) durante 5 minutos para promover a desmineralização erosiva.

A análise quantitativa do potencial inibidor da desmineralização foi realizada através do teste de dureza superficial, sendo a variável de resposta o percentual de perda de dureza.

4.3. OBTENÇÃO, PLANIFICAÇÃO E POLIMENTO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Aproximadamente 160 dentes extraídos de gado da raça Nelore com idade média de 36 meses, abatidos para consumo no Frigorífico Vangélio Mondelli Ltda., em Bauru, SP, foram utilizados no presente estudo. Os dentes passaram por uma seleção prévia, eliminando aqueles com trincas, rachaduras, ou espessura de esmalte muito delgada. Os dentes foram limpos com curetas periodontais para

remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e foram mantidos em solução de timol 0,1% (pH 7,0) até o corte e obtenção dos blocos.

Primeiramente as raízes foram separadas de suas coroas (Figura 1), 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, para obtenção dos blocos de esmalte, as coroas foram fixadas com godiva termo ativada (Kerr Corporation, made in U.S.A.), em uma placa de acrílico (40 x 40 x 5 mm). A placa de acrílico foi parafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) e com o auxílio de dois discos diamantados dupla face (XL 12205, "High concentration", 102 x 0,3 x 12,7 mm³ Extec Corp., Enfield, CT, USA/ Ref: 12205) 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, foram obtidos os blocos de esmalte de 4 x 4 mm da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal (Figura 2).

Com o intuito de realizar a planificação da dentina (Figura 3), os fragmentos foram posicionados no centro de um disco acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura) com a maior área plana de esmalte voltada para o disco e com auxílio de um instrumento PKT (Duflex 55G/SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) e uma lamparina (Jon, Ind. Bras., São Paulo, SP) foram fixados colocando-se cera para técnica de enceramento progressivo (Pasom Ind. e Com. de Materiais para Fundição Ltda, São Paulo, SP, Brasil) ao redor do bloco de esmalte. Cuidado especial foi tomado para que a cera não escoasse entre o esmalte e o acrílico. O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (Arotec, Aropol2v, Cotia, SP, Brasil), com sistema de polimento múltiplo, capaz de realizar o polimento automático de seis corpos de prova, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico, onde são fixados os blocos de esmalte. Neste procedimento de planificação, uma lixa de silicone carbide de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler) sob refrigeração com água deionizada foi utilizada, até que os fragmentos ficassem com espessura de

aproximadamente 3 mm. Assim, a politriz foi acionada em baixa velocidade, com 2 pesos padrão de 86 g, durante 30 segundos a 2 minutos, a depender do desgaste da lixa.

Posteriormente, os blocos foram removidos do disco de acrílico e limpos com xilol (Merck, Darmstadt, Germany) para retirar todo resíduo de cera. Em seguida, foram novamente fixados com cera para técnica de enceramento progressivo (Pasom Ind. e Com. de Materiais para Fundição Ltda, São Paulo, SP, Brasil) no centro da placa de acrílico sendo que, desta vez, com o esmalte voltado para cima. Nesta fase também foi importante evitar que a cera escoasse entre a dentina e a placa de acrílico, o que poderia alterar o paralelismo entre o esmalte e a dentina. O conjunto foi adaptado na politriz iniciando o desgaste do esmalte com uma lixa de silicone carbide de granulação 600 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-600, Buehler) sob refrigeração com água deionizada, durante 30 segundos a 7 minutos, com 2 pesos, em velocidade alta para remoção das ondulações superficiais. Em seguida, foi feito o polimento do esmalte com lixa de silicone carbide de granulação 1200 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-1200, Buehler), sob refrigeração, durante 2 minutos e 30 segundos, com 2 pesos, em velocidade alta, após o qual esperava-se observar uma superfície de aspecto vítreo. Para finalizar o polimento (Figura 4), foi utilizado um feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618) umedecido com uma suspensão de diamante de 1 μ m (Water based diamond permanent polishing suspension). Para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, o conjunto dente/disco foi levado a um aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner Mod USC 750, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda, São Paulo, SP), com frequência de 40 kHz, durante 2 minutos, com água deionizada. Ao final do polimento os blocos ficaram imersos por 10 minutos em água deionizada sob ação do ultra-som.

A partir do início dos procedimentos de planificação e polimento, os blocos de esmalte passaram a ser guardados em refrigerador a aproximadamente 4°C. Durante este período, até o início do experimento *in situ*, foram armazenados fixados nos discos de acrílico numerados, em recipientes plásticos com tampa, separados por gaze, embebidos em água deionizada (Figura 5).

4.4. AVALIAÇÃO DA DUREZA SUPERFICIAL INICIAL E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

A dureza superficial inicial do esmalte foi avaliada utilizando-se um microdurômetro (Buehler, US) acoplado a um microcomputador. Foi utilizado um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, com carga estática de 25g, aplicada por 10 segundos. Em cada corpo de prova foram realizadas 5 endentações na área central com distância de 100 µm entre elas.

Para medir as endentações realizadas, duas marcas pontilhadas que aparecerem na tela do computador se sobrepuseram aos vértices agudos do losango correspondente à endentação (Figura 6), determinando o comprimento da maior diagonal e, conseqüentemente, os resultados da dureza KNOOP através do cálculo automático feito pelo software da seguinte equação:

$$KHN = C.c/d^2$$

Sendo:

KHN = valor de dureza Knoop

C (constante) = 14,230

c = 25 gramas

d = comprimento da maior diagonal da endentação.

A média de dureza das cinco endentações foi utilizada para excluir blocos de esmalte com dureza fora do padrão. Foram desprezados os blocos com um valor médio de dureza 10% acima ou 10% abaixo da média de todos os blocos e, aqueles com desvio-padrão do comprimento das endentações acima de 20% do valor de sua própria média. Foram selecionados 120 blocos de esmalte com dureza média de 342,89 (± 15.30 KgF/mm²).

4.5. ESTERILIZAÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Os blocos de esmalte com a dureza inicial dentro dos padrões de normalidade foram numerados com caneta permanente ultra-fina (A. W. Faber-Castell S.A., São Carlos, SP, Brasil) na região da dentina interna e embalados em envelope de papel Grau cirúrgico (VedaMax, Presidente Venceslau, SP, Brasil) para envio para a esterilização através de óxido de etileno (Acecil Central de Esterilização, Campinas, SP, Brasil) (Figura 7).

4.6. CÁLCULO AMOSTRAL E SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

O tamanho da amostra foi calculado com base em um estudo piloto prévio realizado com três voluntários. Uma amostra de 8 voluntários foi estimada adotando-se o erro α de 5%, erro β de 20%, 7,04% como desvio padrão estimado e 8% como mínima diferença detectável para o percentual de perda de dureza. Considerando a possibilidade inerente de perdas em estudo *in situ*, 20 voluntários foram convidados a participar do estudo.

Desse modo, 20 adultos jovens com idade entre 18 e 29 anos, sendo 14 do sexo feminino e 6 do sexo masculino que preenchiam os critérios de inclusão (residir na mesma região de água de abastecimento fluoretada – 0,7mg F/l, taxa de fluxo salivar estimulado maior que 1ml/min, adequada saúde bucal, sem lesões de cárie, erosão ou gengivite/periodontite), sem violar os critérios de exclusão (doenças sistêmicas, gravidez/lactação, tratamento ortodôntico com aparatologia fixa ou removível e uso de produtos fluoretado nos dois meses anteriores ao início do estudo) fizeram parte do estudo após a assinatura do “Termo de consentimento livre e esclarecido”.

Os voluntários foram submetidos a um exame clínico, realizado sob luz natural e com o uso de espátula de madeira para proceder o afastamento dos tecidos moles, para diagnóstico da presença de lesões de cárie ativa e/ou desgaste dentário e realização dos testes salivares. Todas as coletas de saliva foram realizadas ao final da tarde, com a orientação aos voluntários para ficarem em jejum nas duas horas que antecederam a coleta.

4.6.1 - Avaliação do fluxo salivar não estimulado

A avaliação do fluxo salivar não estimulado foi realizada individualmente. O voluntário foi acomodado em uma cadeira localizada em lugar tranquilo sem estímulos olfativos ou visuais onde permaneceu em repouso com a cabeça levemente inclinada para baixo. Durante 15 minutos a saliva foi dispensada passivamente em um béquero de 100 ml (Pyrex, USA) previamente pesado em uma balança eletrônica de precisão (AND, GR-202, A&D Company Limited C.E., Japan). Após a coleta, o peso do recipiente foi novamente aferido. Considerando-se a densidade da saliva como 1, foi dividida a diferença entre os pesos inicial e final pelo tempo de 15 minutos, resultando na determinação do volume e velocidade de

liberação da saliva (ml/min – fluxo normal > 0,1ml/min). O pH da saliva coletada também foi aferido por meio de um pH-âmetro (B371, I- micronal, Ind. Bras., São Paulo - SP) utilizando uma amostra de 1 ml de saliva.

4.6.2 - Avaliação do fluxo salivar estimulado

Os voluntários mascaram um pedaço de aproximadamente 1 cm de um tubo de látex, nº 203 (Auriflex, São Roque, SP), previamente esterilizado, para estimular a produção de saliva. A saliva produzida durante os primeiros 30 segundos foi deglutida, sendo subsequentemente coletada por 5 minutos em um béquer de 100 ml previamente pesado. Os voluntários foram instruídos a movimentar constantemente o tubo de látex na cavidade bucal.

A saliva coletada no béquer foi pesada de forma semelhante à saliva não estimulada. O fluxo salivar estimulado foi expresso em mililitros por minuto (ml/min.) e uma amostra de 1 ml foi utilizada para determinar seu pH. Foi considerado normal um fluxo maior que 1ml/min.

4.7 - ALEATORIZAÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE ENTRE OS GRUPOS

Após a seleção planejada dos blocos de esmalte conforme os valores de dureza inicial foi feita uma distribuição aleatória estratificada entre os grupos e os voluntários, de forma que em todos os grupos e voluntários houvesse blocos com dureza mais baixa e mais alta. Para tal, foi utilizado o programa Microsoft Excel. Os 120 blocos de esmalte foram ordenados no sentido crescente de dureza e utilizando a função “ALEATÓRIA” da categoria matemática, sorteios aleatórios foram realizados para dividir os blocos entre os vinte voluntários e os três grupos.

4.8 - PREPARO DO DISPOSITIVO INTRABUCAL PALATINO

Moldes do arco superior dos voluntários foram feitos com alginato (Ezact Kromm, Vigodent, Rio de Janeiro, RJ) e vazados em gesso pedra (Duranit, Chaves S.A. Mineração e Indústria, Fortaleza, CE). Três dispositivos intrabucais palatinos por voluntário foram confeccionados em resina acrílica (Jet, Artigos Odontológicos Clássicos, São Paulo, SP). Cada dispositivo tinha 2 cavidades de 6 x 6 x 3 mm, uma no lado direito e outra no esquerdo, onde cada uma delas servia para fixação de 1 bloco de esmalte. A posição dos blocos de esmalte do lado direito ou esquerdo do dispositivo intrabucal foi aleatorizada para cada voluntário e para cada fase. Os

dispositivos foram polidos mecanicamente no torno (NEVONI, São Paulo/Ref: 344) com pedra-pomes (SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil/Ref: 05505) e quimicamente, pela imersão, por 5 segundos, em monômero de resina acrílica aquecido. Os blocos foram fixados no dispositivo intrabucal com cera para técnica de enceramento progressivo (Pasom Ind. e Com. de Materiais para Fundição Ltda, São Paulo, SP, Brasil) sendo adaptados no nível da superfície de resina do dispositivo intrabucal e sobre os blocos de esmalte foram fixados segmentos de fio ortodôntico duro elástico CrNi 0,6 mm no sentido transversal do dispositivo intrabucal, de modo a impedir um possível contato da língua com a superfície dos blocos de esmalte e a eventual remoção da película adquirida previamente formada. A figura 8 ilustra o modelo de dispositivo intrabucal adotado no estudo.

4.9 - PROCEDIMENTOS INTRABUCAIS

Sete dias antes e durante o experimento os voluntários escovaram seus dentes com escova dental (Curaprox 5460 ultra soft, Curaden Swiss, Suíça) e dentifrício fluoretado (Tripla Ação, 1.450 ppm F, Colgate, Brasil) padronizados. Os voluntários foram orientados a não utilizar outros produtos fluoretados durante o período do estudo.

Os participantes receberam instruções para a fase *in situ* (Apêndice 2), sendo previamente treinados para o experimento e orientados sobre a necessidade de mascar a goma dos dois lados da arcada, sem interferir na estabilidade do dispositivo intrabucal.

O dispositivo intrabucal foi instalado na noite anterior ao início de cada fase, após a última higienização bucal, para permitir a formação de película adquirida durante 8 horas. Na manhã seguinte, os participantes compareceram à Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB/USP) para realizarem escovação supervisionada com dentifrício fluoretado por 1 minuto. Para isso, os dispositivos foram armazenados em recipiente plástico e envoltos em gaze umedecida com água (Bauru, São Paulo, Brasil – 0,7 ppm F) por uma hora, de modo a padronizar a concentração de fluoreto residual na cavidade bucal. Em seguida, os dispositivos intrabucais foram reinseridos na boca e permaneceram por duas horas. Após uma hora e trinta minutos, nos grupos I e II foi realizada a mastigação de uma unidade do produto correspondente (Trident Total® e Trident Fresh® respectivamente) durante

30 minutos. No grupo controle, o dispositivo intrabucal permaneceu na boca por 2 horas. Em seguida, a lesão inicial de erosão foi produzida extra oralmente, por meio da imersão do dispositivo intrabucal com os blocos de esmalte em 150 ml de bebida tipo cola (Coca Cola®, pH 2,4, 0,32 ppm F, Marília, SP, Brasil) por 5 minutos (Figura 9).

4.10 - ANÁLISE DA DUREZA SUPERFICIAL PÓS DESMINERALIZAÇÃO

Para a dureza superficial pós desmineralização, foi utilizado o mesmo microdurômetro com as mesmas especificações (25 g por 10 s). Foram feitas 5 endentações, com distância de 100 µm entre elas e a 100 µm das endentações iniciais. A média das endentações (dureza final após a desmineralização) foi utilizada para avaliar a porcentagem de perda de dureza de acordo com a seguinte fórmula:

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

4.11 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do software SigmaPlot versão 12.3 (2011 Systat Software, Alemanha). Verificou-se se os dados apresentavam distribuição normal e se eram homogêneos. Em seguida foram aplicados o teste de Análise de Variância de Medidas Repetidas (ANOVA) e o teste de Tukey. O nível de significância foi de 5%.

Figura 1. Separação da raiz de sua coroa

Figura 2. Secção dupla nos sentidos cérvico-incisal e méso-distal

Figura 3. Aspecto antes e após a planificação da dentina

Figura 4. Aspecto do esmalte após o polimento

Figura 5. Armazenamento dos blocos de esmalte em recipiente plástico

Figura 6. Determinação dos limites da endentação em esmalte hígido (imagem em maior aumento 40x).

Figura 7. Blocos de esmalte embalados e esterilizados

Figura 8. Modelo do dispositivo intrabucal palatino utilizado

Figura 9. Imersão do dispositivo em bebida tipo cola

Resultados

“

*Não há fatos eternos, como não há
verdades absolutas.*

Friedrich Nietzsche

”

5. Resultados

Um voluntário não completou o protocolo *in situ* previsto, pois em uma das fases ficou doente. Os valores médios da porcentagem de perda de dureza dos grupos estudados são expressos na tabela 2.

O efeito de ambas as gomas de mascar contribuiu para uma menor perda de dureza superficial em comparação com o grupo controle (sem goma de mascar), ao passo que não houve diferença estatisticamente significativa entre gomas de mascar com e sem CPP-ACP ($p > 0,05$).

Tabela 2. Médias e desvios-padrão da dureza de superfície de esmalte hígido (baseline), esmalte desmineralizado (KHN) e a porcentagem de perda de dureza de superfície (% PDS) para os grupos experimentais ($n = 19$).

Grupos experimentais	Baseline (Shi - KHN)	Desmineralização (SHd - KHN)	Perda de Dureza (%)
GI (com CPP-ACP)	341,7 ($\pm 15,1$)	230,7 ($\pm 34,4$)	32,7 ($\pm 6,7$) ^a
GII (sem CPP-ACP)	343,9 ($\pm 15,2$)	227,7 ($\pm 32,2$)	33,5 ($\pm 7,9$) ^a
GIII (sem goma de mascar)	340,6 ($\pm 15,9$)	206,0 ($\pm 34,8$)	39,8 ($\pm 6,5$) ^b

*Grupos em que as médias são seguidas por diferentes letras diferem significativamente (Medidas Repetidas teste ANOVA / Tukey, $p < 0,0001$).

Discussão

“

*Alguém está sentado na sombra hoje
porque alguém plantou uma árvore há
muito tempo.*

Warren Buffett

”

6. Discussão

6.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A METODOLOGIA EMPREGADA

A potencialização da remineralização tem sido sugerida como recurso para prevenir a erosão (WEGEHAUPT, ATTIN, 2010). Resultados promissores foram encontrados por estudos que avaliaram a capacidade de remineralização do CPP-ACP em lesões de erosão (PIEKARZ et al., 2008; PANICH, POOLTHONG, 2009; POGGIO et al., 2009; RANJITKAR et al., 2009; VONGSAWAN et al., 2010; POGGIO et al., 2013, PRESTES et al., 2013; ALENCAR et al., 2014). Entretanto, recentemente foi sugerido que a verdadeira remineralização não ocorre em lesões erosivas (GANSS, LUSI, SCHLUETER, 2014) e que geralmente as terapias remineralizadoras se limitam a proporcionar a precipitação mineral (BUZALAF et al., 2014). Além disso, mesmo havendo o restabelecimento de apatita dental perdida, isso não é sempre suficiente para reparar a erosão, visto que a desmineralização e a remineralização são eventos cíclicos (LUSI, 2009). Assim, dependendo da frequência e intensidade dos desafios erosivos, mesmo a superfície do esmalte erodida e seguida de precipitação mineral pode ser perdida.

O esmalte previamente erodido submetido à ação da goma de mascar com CPP-ACP in situ por 2h (1X uso) e 24 h (4X uso) promoveu o restabelecimento de aproximadamente 50% e 95% dos valores iniciais de dureza (ALENCAR et al., 2014). No entanto, este efeito não repercutiu em um menor desgaste erosivo diante de um desafio prolongado de 7 dias com 4 imersões diárias dos blocos de esmalte em refrigerante tipo cola, seguida pelo uso da goma de mascar por 30 minutos. Dentre as hipóteses formuladas para explicar os achados destacam-se (1) a qualidade ou resistência mecânica da remineralização promovida pela saliva na presença do CPP-ACP, o que a luz dos conhecimentos atuais é compreendida com uma precipitação mineral e não pelo recrescimento dos cristais de apatita (BUZALAF et al., 2014); (2) a possibilidade de, mesmo na inexistência de uma abrasão mecânica do esmalte, os próprios movimentos que ocorrem na cavidade bucal e o contato da língua (GREGG et al., 2004; LUSI et al., 2009) terem promovido esta

ação mecânica; e por fim (3) a concepção de que o principal efeito do CPP-ACP poderia estar relacionado à inibição da desmineralização erosiva, assim para que os efeitos protetores (DEVOLD et al., 2006; RYKKE et al., 1995; WHITE et al., 2011; REYNOLDS; STOREY, 1979; WHITE et al, 2011) fossem alcançados o CPP-ACP deveria entrar em contato com o meio bucal antes do desafio erosivo, ou seja, deveria ser aplicado antes da ação do ácido, como realizado no presente estudo.

De acordo com Ganss, Lussi e Schlueter (2014) quando a desmineralização ocorre, os minerais são dissolvidos na superfície, proporcionando uma estrutura rugosa e irregular semelhante a condicionamento ácido da odontologia adesiva. A extensão da profundidade dessa zona desmineralizada não é estabelecida e os valores descritos variam de poucos micrometros (SCHLUETER et al., 2009) até cerca de 100 μm (ZENTNER; DUSCHNER, 1996). A microdureza da superfície desmineralizada é reduzida determinando a pouca resistência as forças mecânicas que, pelo menos em condições experimentais, contribui para uma maior perda de tecido dental em desafios de erosão/abrasão se comparado ao efeito isolado da erosão ou da abrasão. É preciso considerar contudo, que a desmineralização erosiva é bem mais severa em condições *in vitro* ou *in situ* em relação ao que se manifesta em condições *in vivo*. Os delineamentos experimentais que compreendem ciclagens erosivas (WIEGAND; ATTIN, 2011) resultam em valores de perda estrutural claramente maiores do que em condições clínicas. Por isso, no presente estudo um único desafio erosivo foi realizado, o ideal seria um desafio de curta duração, no entanto o tempo de 5 minutos foi escolhido para simular a imersão de uma única ciclagem do desafio erosivo e permitir a comparação com estudos prévios (RIOS et al., 2006a, RIOS et al., 2006b; RIOS et al., 2008, ALENCAR, 2013), na tentativa de entender o mecanismo da goma de mascar com CPP-ACP em cada evento da ciclagem erosiva. Uma vez que já existem dados de sua ação na remineralização (ALENCAR et al, 2014), no presente estudo foi avaliada apenas a ação na inibição da desmineralização erosiva.

Os estudos em erosão dentária, especialmente aqueles que objetivam avaliar a eficácia de medidas preventivas e agentes terapêuticos, são realizados através de modelos *in vitro* ou *in situ*, desenvolvidos para reproduzir as características e condições de estudos *in vivo* (WEST, DAVIES, AMAECHI, 2011). Os estudos clínicos randomizados relacionados aos processos de desmineralização,

remineralização e desgaste erosivo dificilmente são realizados diante das dificuldades, particularmente no que se refere ao recrutamento de número suficiente de indivíduos que apresentem erosão dentária e estejam dispostos a participar de um estudo de longa duração. Adicionalmente, a diferenciação clínica entre erosão, abrasão e atrição e a mensuração da erosão *in vivo* constituem-se obstáculos por não existir metodologia adequada (WEST, DAVIES, AMAECHI, 2011)

O agente terapêutico contido na goma de mascar inviabiliza a admissão de um protocolo *in vitro* de pesquisa, uma vez que existe a indispensável necessidade de mascar o produto, que não pode ser adequadamente reproduzida em laboratório. Por esse motivo, um modelo *in situ* foi adotado, incorporando ao estudo os benefícios do controle do desafio erosivo e do tratamento proposto, expondo os espécimes ao meio bucal (ZERO, 1995; WEST, DAVIES, AMAECHI, 2011).

Diante da variabilidade de protocolos, no que se refere às particularidades do desafio erosivo (*in vivo* ou *ex vivo*) e duração das fases do estudo, West, Davies e Amaechi (2011) ressaltam a inexistência de padronização em estudos desse tipo, de modo que cada grupo de pesquisadores apresenta o seu próprio protocolo.

Desse modo, a metodologia utilizada no presente estudo baseou-se em um trabalho anteriormente desenvolvido (RIOS et al., 2006b), exceto pela modificação do método de esterilização dos dentes bovinos utilizados. A esterilização por meio da imersão em solução tamponada de formol 2%, em pH 7,0 sob temperatura ambiente, por no mínimo 30 dias, utilizada em estudos prévios, tem sido questionada nas recentes publicações, com afirmações de que pode não ser a melhor alternativa na atualidade, além dos comprovados efeitos tóxicos do formaldeído, considerado potencialmente mutagênico e carcinogênico (NATARAJAN et al., 1983; MERK; SPEIT, 1998). Assim sendo, optou-se pela esterilização através do óxido de etileno (HARA et al., 2006; VIEIRA et al., 2007), por ser o método utilizado para esterilização de instrumentais de uso médico-hospitalar, recomendado para completa destruição de microrganismos em biomateriais (CHANDLER, 1990; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998). O procedimento tem sido apontado como eficaz na esterilização de dentes extraídos (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998), além de não alterar a dureza superficial nem a resposta à desmineralização do esmalte (PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993; THOMAS et al., 2007).

Em se tratando de estudos *in situ*, uma das maiores dificuldades enfrentadas diz respeito à colaboração e ao seguimento correto do protocolo pelos voluntários (ZERO, 1995). O cuidado utilizado para minimizar esta limitação no presente estudo foi a seleção de voluntários entre alunos de iniciação científica e pós-graduação em odontologia, pressupondo-se haver entre eles um maior grau de comprometimento e maior responsabilidade com o estudo. Além disso, o curto período de tempo requerido para uso dos dispositivos intrabucais, permitiu que todas as etapas principais do protocolo, dentre elas a padronização da concentração de fluoreto residual na cavidade bucal, a inserção e remoção dos dispositivos intrabucais em tempo cronometrado, fossem acompanhadas diretamente pela pesquisadora.

Tendo em vista que o objetivo do estudo foi avaliar o efeito prévio do uso da goma de mascar na inibição da desmineralização, em estudo piloto prévio, os voluntários foram orientados a ingerir a bebida erosiva após o uso da goma de mascar, contudo, diante da queixa em relação ao desconforto de ingerir a bebida em temperatura ambiente e de maneira bastante lenta, optou-se pela desmineralização dos blocos de esmalte *ex vivo*, como uma alternativa viável de padronização da exposição dos blocos à bebida ácida, no que se refere ao tempo de imersão e temperatura da bebida.

Os métodos empregados para avaliação da erosão/desgaste erosivo são determinados mediante características próprias de cada estudo e variam em função das condições superficiais dos espécimes, o tipo de modelo experimental utilizado, da natureza da lesão, necessidade de acompanhamento longitudinal e da informação que se deseja obter. A erosão do esmalte em estágios iniciais, manifestada pela desmineralização parcial da superfície resulta em amolecimento (diminuição da dureza) e aumento da rugosidade do tecido, podendo ser mensurada através da resistência do substrato à pressão exercida por um penetrador Knoop ou Vickers, sendo que o primeiro é mais sensível a alterações na camada mais superficial da lesão erosiva (SCHLUETER et al., 2011). De acordo com (LUSSI et al., 2000) a avaliação da dureza Knoop permite a discriminação de diferentes potenciais erosivos de várias substâncias sobre os tecidos dentários. Nesse protocolo *in situ*, a dureza superficial foi utilizada para estimar o potencial protetor do CPP-ACP contra a erosão do esmalte, tendo como referencial o amolecimento do esmalte causado pela bebida ácida uma vez que se tratava da mesma superfície

inicial, pois foi possível visualizar as endentações do *baseline* (TENUTA e YOUNG, 2011).

6.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS

O efeito do CPP-ACP na prevenção da erosão dentária é controverso (WIEGAND, ATTIN, 2014) e o seu mecanismo de ação ainda não foi completamente elucidado (RANJITKAR et al., 2009c). O desconhecimento do real mecanismo de ação tem conduzido ao delineamento de estudos geradores de conhecimentos parciais. Além disso outra limitação apresentada pelos estudos corresponde ao momento de aplicação da terapia proposta, ou seja, antes ou após o desafio erosivo. Esses fatores contribuem para que sejam estabelecidas diferentes conclusões, com achados promissores (REES et al., 2007; RANJITKAR et al., 2009a; RANJITKAR et al., 2009b; POGGIO et al., 2009; MANTON et al., 2009; PRESTES et al., 2013, ALENCAR et al., 2014) ou desestimuladores (WANG et al., 2011; WEGEHAUPT et al., 2012; ABDULLAH et al., 2012; WIEGAND; ATTIN, 2014), constituindo o principal motivo de divergência de resultados na literatura a respeito de uma mesma terapia, como ocorre, por exemplo, com o nanocomplexo de CPP-ACP.

Em conformidade com o que foi relatado previamente (RIOS et al, 2006b, RIOS et al 2008), os resultados do presente estudo demonstraram o efeito protetor do uso prévio de goma de mascar na diminuição da perda de dureza superficial do esmalte erodido em relação ao esmalte exposto ao fluxo salivar não estimulado pela goma de mascar. Segundo Hara e Zero (2014), o aumento do fluxo salivar proporciona um cenário favorável a prevenção ou redução dos efeitos do ataque erosivo, devido ao aumento dos constituintes orgânicos e inorgânicos da saliva. Conforme estabelecido na literatura, a saliva desempenha um papel importante em reduzir o desgaste erosivo antes de um ataque erosivo/abrasivo (AMAECHI, HIGHAM, 2001) devido à formação da película salivar (HARA et al., 2006). Desse modo, a desmineralização da superfície dentária ocorrerá somente após a difusão dos ácidos pela película ou após a sua dissolução parcial e remoção decorrente da interação com o ácido, o que determina que, apesar de não prevenir o contato direto do ácido com a superfície dentária, a película adquirida pode reduzir ou retardar essa interação imediata. Além disso, as proteínas adsorvidas na película podem

atuar como atenuadoras do ataque ácido (ZERO, 1996; LUSSI, JAEGGI, ZERO, 2004).

O reforço do efeito protetor da película salivar tem sido sugerido através da modificação da sua composição pela proteína caseína. Postula-se que a caseína pode ser adsorvida nas proteínas da película adquirida, atuando como uma barreira contra a dissolução, de modo a restringir o acesso de ácido à superfície do cristal de esmalte e evitar a perda de cálcio e fosfato da hidroxiapatita (BARBOUR et al., 2008; HEMINGWAY et al., 2010). No entanto, é preciso considerar que a caseína fosfopeptídea (CPP) apresenta configuração e propriedades distintas da caseína e o seu mecanismo de proteção também pode ser diferente. O CPP tem sido descrito como um vetor (BARBOUR et al, 2008; HEMINGWAY et al, 2010) responsável pela formação de micelas (DEVOLD et al., 2006) que resultam na deposição de uma película (RYKKE et al., 1995) com características de permeabilidade seletiva, capaz de restringir o contato de íons H^+ com a superfície do dente e inibir a perda de íons Ca^{+2} . Diante da queda de pH, o componente ACP promoveria um aumento localizado do grau de saturação destes minerais na estrutura do dente, inibindo a desmineralização (WHITE et al., 2011).

Independentemente do mecanismo de ação proposto para o CPP-ACP, Wang et al. (2011) observaram que a aplicação de pasta de CPP-ACP antes ou após o desafio erosivo não manifestou qualquer efeito contra o ataque erosivo. Contrariamente, Poggio et al., (2013) demonstraram por microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura que uma pasta de CPP-ACP é capaz formar uma camada que preenche as cavidades interprismáticas e cobre parcialmente os prismas por um longo período de tempo, podendo evitar, assim, um ataque ácido seguinte. Os autores afirmaram que o efeito preventivo contra a erosão promovido pela pasta de CPP-ACP não envolveria o processo de remineralização, mas uma ação preventiva contra a desmineralização, contudo, a camada observada no estudo não foi submetida a um desafio erosivo subsequente para assegurar o efeito preventivo contra o ácido. Desse modo, a constatação é limitada e suscita novas investigações sobre a qualidade e resistência da referida camada protetora.

Em se tratando do uso de goma de mascar como veículo para o transporte de CPP-ACP, os benefícios protetores deveriam ser superiores, considerando-se a vantagem da permanência da goma de mascar na boca por períodos mais longos

em comparação ao uso de pastas, cremes ou enxaguatórios bucais (SANARES et al., 2009). Contudo, os resultados do presente estudo demonstraram que a adição de CPP-ACP à goma de mascar não foi capaz de proteger o esmalte contra um desafio erosivo de 5 minutos em bebida tipo cola (pH 2,4), apesar da goma de mascar ter permanecido por 30 minutos na cavidade bucal. O próprio aumento do fluxo salivar e a ação de lavagem promovida pela saliva podem ter contribuído para a diluição e/ou dispersão do CPP-ACP, inviabilizando a formação de micelas em estrutura pelicular conforme descrito por Rykke et al. (1995); Devold et al. (2006) e Barbour et al, 2008. Por isso, neste protocolo *in situ* o efeito da goma de mascar com CPP-ACP foi equivalente ao da goma de mascar regular, não manifestando efeito preventivo contra a desmineralização.

Assim sendo, é preciso considerar a possibilidade de que o CPP-ACP adicionado à goma de mascar não apresente ação adicional na prevenção da erosão como encontrado em outras formas de utilização do CPP-ACP em relação à erosão dentária (LENNON et al., 2006; WEGEHAUPT, ATTIN, 2010; WANG et al., 2011; WEGEHAUPT et al., 2012), em virtude de não ser capaz de prevenir a desmineralização do esmalte, mesmo demonstrando efeito potencializador da precipitação mineral sobre superfícies erodidas conforme demonstrado por Prestes et al., 2013 e Alencar et al., 2014.

De acordo com as limitações do presente estudo *in situ*, a hipótese nula 1 foi rejeitada, uma vez que houve diferença na capacidade em inibir a desmineralização erosiva quando o fluxo salivar foi estimulado por goma de mascar em relação ao fluxo salivar não estimulado. Contudo, a hipótese nula 2 foi aceita, visto que não se constatou diferença na capacidade em inibir a desmineralização erosiva quando o fluxo salivar foi estimulado por goma de mascar contendo CPP-ACP em relação à goma de mascar convencional sem CPP-ACP. Por conseguinte, o uso de goma de mascar com CPP-ACP não pode ser considerado uma estratégia de prevenção eficaz. No entanto, ainda se faz necessário avaliar o efeito da goma de mascar com CPP-ACP sobre a superfície erodida submetida a um único novo desafio erosivo, para determinar se seu efeito pode ser potencializado numa superfície alterada.

Conclusões

“

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.

Marthin Luther King

”

7. Conclusões

Os resultados sugerem que o uso de gomas de mascar sem açúcar imediatamente antes de uma desmineralização erosiva é capaz de diminuir a perda de dureza do esmalte. No entanto, a presença do CPP-ACP na goma de mascar não foi capaz de aumentar este efeito protetor. Portanto, não há evidências científicas de que a goma de mascar contendo CPP-ACP pode ser utilizada para prevenir a erosão do esmalte.

Referências

“

Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o que você faz com aquilo que você sabe.

Aldous Huxley

”

Referências

- Abdullah AZ, Ireland AJ, Sandy JR, Barbour ME. A Nanomechanical Investigation of Three Putative Anti-Erosion Agents: Remineralisation and Protection against Demineralisation. *Int J Dent*. 2012;768126.
- Abu-Ghazaleh SB, Burnside G, Milosevic A. The prevalence and associated risk factors for tooth wear and dental erosion in 15- to 16-year-old schoolchildren in Amman, Jordan. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2013;14(1):21-7.
- Al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith A. Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part I: Prevalence and influence of differing socioeconomic backgrounds. *Br Dent J*. 2001;190(3):145-9.
- Alencar CR, Magalhães AC, de Andrade Moreira Machado MA, de Oliveira TM, Honório HM, Rios D. In situ effect of a commercial CPP-ACP chewing gum on the human enamel initial erosion. *J Dent*. 2014;42(11):1502-7.
- Alencar CRB. Efeito in situ de uma goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na erosão dentária. Bauru, 2013. 151p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- Altinok B, Tanboga I, Peker S, Eren F, Bakkal M, Peker F. The effect of laser-activated Acidulated Phosphate Fluoride on enamel submitted to erosive solution only: an in vitro preliminary evaluation. *Eur J Paediatr Dent*. 2011; 12(1):13-6.
- Amaechi BT, Higham SJ, Edgar WM: Efficacy of sterilisation methods and their effect on enamel demineralisation. *Caries Res* 1998;32(6):441-6.
- Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent*. 2005;33(3):243-52.
- Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent*. 2001;29(5):371-6.
- Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res*. 1986;65(1):2-11.
- Arnadottir IB, Holbrook WP, Eggertsson H, Gudmundsdottir H, Jonsson SH, Gudlaugsson JO, Saemundsson SR, Eliasson ST, Agustsdottir H. Prevalence of

- dental erosion in children: a national survey. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2010;38(6):521-6.
- Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res* 2000;34:48-52.
- Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R. *In situ* evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res* 2001;35:216-22.
- Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A. Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Dis.* 2005;11(1):7-12.
- Attin T, Zirkel C, Hellwig E. Brushing abrasion of eroded dentin after application of sodium fluoride solutions. *Caries Res.* 1998;32(5):344-50.
- Attin T, Buchalla W, Putz B. In vitro evaluation of different remineralization periods in improving the resistance of previously eroded bovine dentine against tooth-brushing abrasion. *Arch Oral Biol.* 2001;46(9):871-4.
- Auad SM, Waterhouse PJ, Nunn JH, Steen N, Moynihan PJ. Dental erosion amongst 13- and 14-year-old Brazilian schoolchildren. *Int Dent J.* 2007;57(3):161-7.
- Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole casein: the effects of pH, protein concentration, calcium, and ionic strength. *Eur J Oral Sci.* 2008;116(5):473-8.
- Bardsley PF, Taylor S, Milosevic A. Epidemiological studies of tooth wear and dental erosion in 14-year-old children in North West England. Part 1: The relationship with water fluoridation and social deprivation. *Br Dent J.* 2004;197(7):413-6.
- Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:119-39.
- Bartlett DW, Coward PY, Nikkah C, Wilson RF. The prevalence of tooth wear in a cluster sample of adolescent schoolchildren and its relationship with potential explanatory factors. *Br Dent J.* 1998;14;184(3):125-9.
- Bartlett DW, Lussi A, West NX, Bouchard P, Sanz M, Bourgeois D. Prevalence of tooth wear on buccal and lingual surfaces and possible risk factors in young European adults. *J Dent.* 2013;41(11):1007-13.

- Bartlett DW, Smith BG, Wilson RF. Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. *Br Dent J.* 1994;176(9):346-8.
- Boskey AL, Posner AS. Conversion of amorphous calcium phosphate to microcrystalline hydroxyapatite: a ph-dependent, solution-mediated, solid-solid conversion. *J Agric Food Chem* 1973; 77: 2313-7.
- Buzalaf MA, Magalhães AC, Wiegand A. Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:244-52.
- Buzalaf MA, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:97-114.
- Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(5):493-502.
- Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J.* 2003;48(4):240-3.
- Chandler NP: Preparation of dental enamel for use in intraoral cariogenicity experiments. *J Dent* 1990;18(1):54-8.
- Cheib Z, Lussi A. Impact of acquired enamel pellicle modification on initial dental erosion. *Caries Res.* 2011;45(2):107-12.
- Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res.* 2008;42(2):88-97.
- Cochrane NJ, Shen P, Byrne SJ, Walker GD, Adams GG, Yuan Y, Reynolds C, Hoffmann B, Dashper SG, Reynolds EC. Remineralisation by chewing sugar-free gums in a randomized, controlled in situ trial including dietary intake and gauze to promote plaque formation. *Caries Res.* 2012;46(2):147-55.
- Collings KL, Rodriguez-Stanley S, Proskin HM, Robinson M, Miner PB, Jr. Clinical effectiveness of a new antacid chewing gum on heartburn and oesophageal pH control. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(12):2029-35.

- Correr GM, Alonso RC, Correa MA, Campos EA, Baratto-Filho F, Puppim-Rontani RM. Influence of diet and salivary characteristics on the prevalence of dental erosion among 12-year-old schoolchildren. *J Dent Child (Chic)*. 2009;76(3):181-7.
- Coultate TP: Proteins, in Coultate TP (ed): Food. The Chemistry of its components. Cambridge, Royal Society of Chemistry, 2002, p. 126-74.
- Cross KJ, Huq NL, O'Brien-Simpson M, Perich JW, Attard TJ, Reynolds EC. The role of multiphosphoserlylated peptides in mineralised tissue regeneration. *Int J Pept Res Ther* 2007;13:475-9.
- Deery C, Wagner ML, Longbottom C, Simon R, Nugent ZJ. The prevalence of dental erosion in a United States and a United Kingdom sample of adolescents. *Pediatr Dent*. 2000;22(6):505-10.
- Devold TG, Rykke M, Isabey D, Sørensen ES, Christensen B, Langsrud T, Svenning C, Borch-Iohnsen B, Karlsen J, Vegarud GE: In vitro studies of adsorption of milk proteins onto tooth enamel. *Int Dairy J*. 2006;16:1013-7.
- Duckworth RM. The science behind caries prevention. *Int Dent J*. 1993;43(6 Suppl 1):529-39.
- Dugmore CR, Rock WP. A multifactorial analysis of factors associated with dental erosion. *Br Dent J*. 2004a;196(5):283-6.
- Dugmore CR, Rock WP. The prevalence of tooth erosion in 12-year-old children. *Br Dent J*. 2004b;196(5):279-82.
- Dugmore CR, Rock WP. The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. *Int J Paediatr Dent*. 2003;13(5):295-303.
- Edgar WM. Sugar substitutes, chewing gum and dental caries-- A review. *Br Dent J*. 1998;184(1):29-32.
- Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP. Effect of time on the remineralization of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Res* 2001;35(3):211-5.
- El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC, Truin GJ. Dynamics of tooth erosion in adolescents: A 3-year longitudinal study. *J Dent*. 2010;38(2):131-7.

- El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC, Truin GJ. Multifactorial analysis of factors associated with the incidence and progression of erosive tooth wear. *Caries Res.* 2011;45(3):303-12.
- El Aidi H, Bronkhorst EM, Truin GJ. A longitudinal study of tooth erosion in adolescents. *J Dent Res.* 2008;87(8):731-5.
- El Karim IA, Sanhoury NM, Hashim NT, Ziada HM. Dental erosion among 12-14 year old school children in Khartoum: A pilot study. *Community Dent Health.* 2007;24(3):176-80.
- Ferrazzano GF, Coda M, Cantile T, Sangianantoni G, Ingenito A. SEM investigation on casein phosphopeptides capability in contrasting cola drinks enamel erosion: an in vitro preliminary study. *Eur J Paediatr Dent.* 2012;13(4): 285-8.
- Fitzgerald RJ. Potencial use of caseinophosphopeptides. *Int Dairy J* 1998;8:(5-6)451-7.
- Ganss C, Hardt M, Lussi A, Cocks AK, Klimek J, Schlueter N. Mechanism of action of tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in dentine - an in vitro tin-uptake, tissue loss, and scanning electron microscopy study. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(4):376-84.
- Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 2004;38(6):561-6.
- Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents--a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001;29(4):264-71.
- Ganss C, Lussi A, Schlueter N. The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:99-107.
- Ganss C, Lussi A, Sommer N, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine. *Caries Res.* 2010;44(3):248-52.
- Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J. Efficacy of waiting periods and topical fluoride treatment on toothbrush abrasion of eroded enamel in situ. *Caries Res.*

2007;41(2):146-51.

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: a comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res.* 2008;42(1):2-7.

Ganss C. Is erosive tooth wear an oral disease? *Monogr Oral Sci.* 2014; 25:16-21.

Gregg T, Mace S, West NX, Addy M. A study in vitro of the abrasive effect of the tongue on enamel and dentine softened by acid erosion. *Caries Res.* 2004; 38(6):557-60.

Grippio JO. Abfractions: a new classification of hard tissue lesions of teeth. *J Esthet Dent.* 1991;3(1):14-9.

Gupta R, Prakash V. CPP-ACP complex as a new adjunctive agent for remineralisation: a review. *Oral Health Prev Dent.* 2011;9(2):151-65.

Gurgel CV, Rios D, Buzalaf MA, da Silva SM, Araújo JJ, Pauletto AR, de Andrade Moreira Machado MA. Dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Pediatr Dent.* 2011a;33(1):23-8.

Gurgel CV, Rios D, de Oliveira TM, Tessarolli V, Carvalho FP, Machado MA. Risk factors for dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Int J Paediatr Dent.* 2011b;21(1):50-7.

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.

Hannig C, Berndt D, Hoth-Hannig W, Hannig M. The effect of acidic beverages on the ultrastructure of the acquired pellicle-- An in situ study. *Arch Oral Biol.* 2009;54(6):518-26.

Hannig M, Balz M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res.* 1999; 33:372-9.

Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci.* 2006;19:29-64.

Hara AT, Turssi CP, Teixeira EC, Serra MC, Cury JA. Abrasive wear on eroded root dentine after different periods of exposure to saliva in situ. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(5):423-7.

- Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:197-205.
- Hara AT, Ando M, González-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res.* 2006;85(7):612-6.
- Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci.* 2006; 20:88-99.
- Harding MA, Whelton H, O'Mullane DM, Cronin M. Dental erosion in 5-year-old Irish school children and associated factors: a pilot study. *Community Dent Health.* 2003;20(3):165-70.
- Hemingway CA, Shellis RP, Parker DM, Addy M, Barbour ME. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by ovalbumin as a function of pH, calcium concentration, protein concentration and acid type. *Caries Res.* 2008;42(5):348-53.
- Hemingway CA, White AJ, Shellis RP, Addy M, Parker DM, Barbour ME. Enamel erosion in dietary acids: inhibition by food proteins in vitro. *Caries Res.* 2010;44(6):525-30.
- Hooper S, Hughes J, Parker D, Finke M, Newcombe RG, Addy M, West N. A clinical study in situ to assess the effect of a food approved polymer on the erosion potential of drinks. *J Dent.* 2007;35(6):541-6.
- Hove LH, Holme B, Stenhagen KR, Tveit AB. Protective effect of TiF(4) solutions with different concentrations and pH on development of erosion-like lesions. *Caries Res.* 2011;45(1):64-8.
- Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):60-8.
- Huysmans MC, Jager DH, Ruben JL, Unk DE, Klijn CP, Vieira AM. Reduction of Erosive Wear in situ by Stannous Fluoride-Containing Toothpaste. *Caries Res.* 2011;45(6):518-23.
- Huysmans MC, Young A, Ganss C. The role of fluoride in erosion therapy. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:230-43.
- Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing

casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res.* 2004;38(6):551-6.

Imfeld T. Chewing gum--facts and fiction: a review of gum-chewing and oral health. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1999;10(3):405-19.

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

Itthagarun A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res.* 2005;39(3):251-4.

Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:55-73.

Jaeggi T, Lussi A. Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. *Caries Res.* 1999;33(6):455-61.

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

Jarvinen VK, Rytomaa II, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res.* 1991;70(6):942-7.

Kato MT, Lancia M, Sales-Peres SH, Buzalaf MA. Preventive effect of commercial desensitizing toothpastes on bovine enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 2010;44(2):85-9.

Kirthiga M, Poornima P, Praveen R, Sakeena B, Disha P. Dental Erosion and its Associated Factors In 11-16-Year Old School Children. *J Clin Pediatr Dent.* 2015;39(4):336-42.

Kitts DD. Calcium Binding peptides; in Mine Y, Shahidi F (eds): *Nutraceutical Proteins and peptides in health and disease*. Boca Raton, CRC, 2006, p.11-27.

Klont B, ten Cate JM. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. *Caries Res.* 1991;25(1):39-45.

- Kumar VL, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J*. 2008;53(1):34-40.
- Kunzel W, Cruz MS, Fischer T. Dental erosion in Cuban children associated with excessive consumption of oranges. *Eur J Oral Sci*. 2000;108(2):104-9.
- Lagerweij MD, ten Cate JM. Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: An in situ study. *Caries Res*. 2002;36(4):270-4.
- Larsen MJ, Fejerskov O. Chemical and structural challenges in remineralization of dental enamel lesions. *Scand J Dent Res*. 1989;97(4):285-96.
- Larsen MJ, Richards A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. *Caries Res*. 2002;36(1):75-80.
- Larsen MJ. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res*. 1990;69::575-80.
- Larsen MJ. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. *Caries Res*. 2001;35(3):229-34.
- Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle-- A review. *Adv Dent Res*. 2000;14:22-8.
- Lennon AM, Pfeffer M, Buchalla W, Becker K, Lennon S, Attin T. Effect of a casein/calcium phosphate-containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. *Caries Res*. 2006;40(2):154-7.
- Luo Y, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R. The prevalence of dental erosion in preschool children in China. *J Dent*. 2005;33(2):115-21.
- Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:1-15.
- Lussi A, Hellwig E, Ganss C, Jaeggi T. Buonocore Memorial Lecture. Dental erosion. *Oper Dent*. 2009;34(3):251-62.
- Lussi A, Jaeggi T, Schaffner M. Prevention and minimally invasive treatment of erosions. *Oral Health Prev Dent*. 2004;2(Suppl 1):321-5.

- Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38(Suppl 1):34-44.
- Lussi A, Jaeggi T. Erosion--diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig.* 2008;12(Suppl 1):S5-13.
- Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci.* 2000;108(2):110-4.
- Lussi A, Megert B, Shellis RP, Wang X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr.* 2012;107(2):252-62.
- Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011; 45(Suppl 1):2-12.
- Lussi A. Dental erosion-novel remineralizing agents in prevention and repair. *Adv Dent Res* 2009; 21:13-16.
- Lussi A. Erosive tooth wear - A multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:1-8.
- Magalhaes A, Rios D, Buzalaf MAR. Influência dos fluoretos na Prevenção de lesões erosivas. *Fluoretos e Saúde bucal.* São Paulo: Santos; 2008. p. 523-7.
- Magalhaes AC, Moraes SM, Rios D, Buzalaf MA. Effect of ion supplementation of a commercial soft drink on tooth enamel erosion. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2009a;26(2):152-6.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:158-70.
- Magalhães AC, Levy FM, Rizzante FA, Rios D, Buzalaf MA. Effect of NaF and TiF(4) varnish and solution on bovine dentin erosion plus abrasion in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2012;70(2):160-4.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MA. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009b;17(2):75-86.

- Manton DJ, Cai F, Yuan Y, Walker GD, Cochrane NJ, Reynolds C, Brearley-Messer LJ, Reynolds EC. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate added to acidic beverages on enamel erosion in vitro. *Aust Dent J*. 2010;55(3):275-9.
- Merk O, Speit G. Significance of formaldehyde-induced DNA protein cross-link for mutagenesis. *Environmental Molecular Mutagenesis*. 1998;32:260-8.
- Millward A, Shaw L, Smith A. Dental erosion in four-year-old children from differing socioeconomic backgrounds. *ASDC J Dent Child*. 1994;61(4):263-6.
- Milosevic A, Young PJ, Lennon MA. The prevalence of tooth wear in 14-year-old school children in Liverpool. *Community Dent Health*. 1994;11(2):83-6.
- Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC. The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res*. 2008;42(3):171-84.
- Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J*. 1998;48(6):529-39.
- Mukai Y, ten Cate JM. Remineralization of advanced root dentin lesions in vitro. *Caries Res*. 2002;36(4):275-80.
- Murakami C, Oliveira LB, Sheiham A, NahasPires Correa MS, Haddad AE, Bonecker M. Risk indicators for erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Caries Res*. 2011;45(2):121-9.
- Nahas Pires Correa MS, Nahas Pires Correa F, Nahas Pires Correa JP, Murakami C, Mendes FM. Prevalence and associated factors of dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. *Int J Paediatr Dent*. 2011;21(6):451-8.
- Natarajan AT, Darroudi F, Bussman CJM, van Kesteren-van Leeuwen AC. Evaluation of the mutagenicity of formaldehyde in mammalian cytogenetic assays in vivo and in vitro. *Mutation Research* 1983;122:355-60.
- Nongonierma AB, Fitzgerald RJ. Biofunctional properties of caseinophosphopeptides caseinophosphopeptides in the oral cavity. *Caries Res*. 2012;46(3):234-67.
- Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. *J Am Dent Assoc*. 2009;140(4):455-60.

- Pashley EL, Tao L, Pashley DH. Sterilization of human teeth: its effect on permeability and bond strength. *Am J Dent*. 1993;6(4):189-91.
- Passos VF, Santiago SL, Tenuta LM, Cury JA. Protective effect of NaF/ triclosan/ copolymer and MFP dentifrice on enamel erosion. *Am J Dent*. 2010; 23(4):193-5.
- Peres KG, Armenio MF, Peres MA, Traebert J, De Lacerda JT. Dental erosion in 12-year-old schoolchildren: a cross-sectional study in Southern Brazil. *Int J Paediatr Dent*. 2005;15(4):249-55.
- Peutzfeldt A, Jaeggi T, Lussi A. Restorative therapy of erosive lesions. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:253-61.
- Piekarz C, Ranjitkar S, Hunt D, McIntyre J. An in vitro assessment of the role of Tooth Mousse in preventing wine erosion. *Aust Dent J*. 2008;53(1):22-5.
- Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: An AFM in vitro study. *J Dent*. 2009;37(12):949-54.
- Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P, Ceci M. Analysis of Dentin/Enamel Remineralization by a CPP-ACP Paste: AFM and SEM Study. *Scanning*. 2013; 9999:1-9.
- Polland KE, Higgins F, Orchardson R. Salivary flow rate and pH during prolonged gum chewing in humans. *J Oral Rehabil*. 2003;30(9):861-5.
- Prestes L, Souza BM, Comar LP, Salomão PA, Rios D, Magalhães AC. In situ effect of chewing gum containing CPP-ACP on the mineral precipitation of eroded bovine enamel-A surface hardness analysis. *J Dent*. 2013;41(8):747-51.
- Rallan M, Chaudhary S, Goswami M, Sinha A, Arora R, Kishor A. Effect of various remineralising agents on human eroded enamel of primary teeth. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2013;14(5):313-8.
- Ramalingam L, Messer LB, Reynolds EC. Adding casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate in vitro erosion. *Pediatr Dent*. 2005;27(1):61-7.
- Ranjitkar S, Kaidonis JA, Richards LC, Townsend GC. The effect of CPP-ACP on enamel wear under severe erosive conditions. *Arch Oral Biol*. 2009a; 54(6):527-32.

- Ranjitkar S, Rodriguez JM, Kaidonis JA, Richards LC, Townsend GC, Bartlett DW. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on erosive enamel and dentine wear by toothbrush abrasion. *J Dent*. 2009b; 37(4):250-4.
- Ranjitkar S, Rodriguez JM, Kaidonis JA, Richards LC, Townsend GC, Bartlett DW. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on erosive enamel and dentine wear by toothbrush abrasion. *J Dent* 2009c;37:250–4.
- Rao SK, Bhat GS, Aradhya S, Devi A, Bhat M. Study of the efficacy of toothpaste containing casein phosphopeptide in the prevention of dental caries: a randomized controlled trial in 12- to 15-year-old high caries risk children in Bangalore, India. *Caries Res*. 2009;43(6):430-5.
- Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent*. 2007;35(4):355-7.
- Reussner GH, Coccodrilli G, Jr., Thiessen R, Jr. Effects of phosphates in acid-containing beverages on tooth erosion. *J Dent Res*. 1975;54(2):365-70.
- Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, et al. Fluoride and casein phosphopeptideamorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2008;87:344-8.
- Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res*. 2003;82(3):206-11.
- Reynolds EC, Storey E. A review of the effect of milk on dental caries. *Aust J Dairy Tech*. 1979;9:175-80.
- Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: A review. *Spec Care Dentist*. 1998;18(1):8-16.
- Reynolds EC. Casein phosphopeptide- Amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res*. 2009;21(1):25-9.
- Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res*. 1997; 76(9):1587-95.

- Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Buzalaf MA, Palma-Dibb RG, Machado MA, da Silva SM. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an in situ study. *Braz Oral Res.* 2006a;20(2): 148-54.
- Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Silva SM, Delbem AC, Machado MA, Buzalaf MA. Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel. *Braz Oral Res.* 2008;22(2):132-8.
- Rios D, Magalhães AC, Honório 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
- Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, Buzalaf MA. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. *Caries Res.* 2006b;40(3):218-23.
- Robertson MA, Kau CH, English JD, Lee RP, Powers J, Nguyen JT. MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: a prospective randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;140(5):660-8.
- Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol.* 2000;45(7):569-75.
- Rykke M, Smistad G, Rølla G, Karsen J: Micelle like structures in human saliva. *Colloids Surf B Biointerfaces* 1995;4:33-44.
- Salas MM, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: an epidemiological systematic review and meta-regression analysis. *J Dent.* 2015 Jan;43(1):42-50.
- Sanares AME, King NM, Itthagarun A, Wong HM. Chewing gum as a medium for the delivery of anticariogenic therapeutic agents: a review. *Hong Kong Dent* 2009;6:13-22.
- Saxegaard E, Rølla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res.* 1988;96(6):523-35.

- Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):13-23.
- Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C. Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: an in vitro tin-uptake, tissue-loss, and scanning electron micrograph study. *Eur J Oral Sci.* 2009;117(4):427-34.
- Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of an experimental tin-F-containing solution in erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 2009;43(6):415-21.
- Schlueter N, Tveit AB. Prevalence of erosive tooth wear in risk groups. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:74-98.
- Schupbach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res.* 1996; 75(10): 1779-88.
- Serra MC, Messias DC, Turssi CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. *Braz Oral Res.* 2009;23(Suppl 1):49-55.
- Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:32-45.
- Shellis RP, Barbour ME, Jesani A, Lussi A. Effects of buffering properties and undissociated acid concentration on dissolution of dental enamel in relation to pH and acid type. *Caries Res.* 2013;47(6):601-11.
- Shellis RP, Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:163-79.
- Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res.* 2001; 80(12):2066-70.
- Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res.* 2012; 91:1110-8.
- Siqueira WL, Margolis HC, Helmerhorst EJ, Mendes FM, Oppenheim FG. Evidence of intact histatins in the in vivo acquired enamel pellicle. *J Dent Res.* 2010; 89:626-30.

- Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Amorphous calcium phosphate-based bioactive polymeric composites for mineralizes tissue regeneration. *J Res Natl Inst Stan* 2003;108:167-82.
- Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J*. 2000;50(3):140-61.
- Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Arch Oral Biol*. 2010;55(7):541-4.
- Swaigood HE: Characteristics of milk; in Fennema OR (ed): *Food Chemistry*. New York, Marcel Dekker, 1996.
- Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent*. 2008;36(1):74-9.
- Tao DY, Hao G, Lu HX, Tian Y, Feng XP. Dental erosion among children aged 3-6 years and its associated indicators. *J Public Health Dent*. 2015;7.
- ten Cate JM, Duijsters PP. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res*. 1983;17(3):193-9.
- Thomas RZ, Ruben JL, ten Bosch JJ, Huysmans MC. Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro. *J Dent*. 2007;35(7):547-51.
- Truin GJ, van Rijkom HM, Mulder J, van 't Hof MA. Dental caries and dental erosion among 5- and 6-year old and 11- and 12-year old school children in the Hague, the Netherlands. Changing prevalences? *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 2004;111(3):74-9.
- Van Rijkom HM, Truin GJ, Frencken JE, Konig KG, van 't Hof MA, Bronkhorst EM, Roeters FJ. Prevalence, distribution and background variables of smooth-bordered tooth wear in teenagers in the hague, the Netherlands. *Caries Res*. 2002;36(2):147-54.
- Vieira AM, Ruben JL, Bronkhorst EM, Huysmans MC. In vitro reduction of dental erosion by low-concentration TiF₄ solutions. *Caries Res*. 2011;45(2):142-7.
- Vieira A, Jager DH, Ruben JL, Huysmans MC. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. *Caries Res*. 2007;41(1):61-7.

- Vongsawan K, Surarit R, Rirattanapong P. The effect of high calcium milk and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel erosion caused by cholinated water. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2010; 41(6):1494-9.
- Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, Honda S, Koganei M, Oda M, Reynolds E. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res*. 2006;73(1):74-8.
- Wang P, Lin HC, Chen JH, Liang HY. The prevalence of dental erosion and associated risk factors in 12-13-year-old schoolchildren in Southern China. *BMC Public Health*. 2010;10:478.
- Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent*. 2011;39(2):163-70.
- Wegehaupt F, Gunthart N, Sener B, Attin T. Prevention of erosive/abrasive enamel wear due to orange juice modified with dietary supplements. *Oral Dis*. 2011;17(5):508-14.
- Wegehaupt FJ, Schneiders V, Wiegand A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of two different fluoride compounds and an in vitro pellicle on the amount of KOH-soluble fluoride and its retention after toothbrushing. *Acta Odontol Scand*. 2009;29:1-5.
- Wegehaupt FJ, Attin T. The role of fluoride and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate in the prevention of erosive/abrasive wear in an in vitro model using hydrochloric acid. *Caries Res*. 2010;44(4):358-63.
- Wegehaupt FJ, Tauböck TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(3):177-83.
- West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Res*. 2011;45(Suppl 1):60-8.
- White AJ, Gracia LH, Barbour ME. Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. *Caries Res*. 2011;45(1):13-20.
- Wiegand A, Attin T. Design of erosion/abrasion studies - insights and rational concepts. *Caries Res*. 2011;45 Suppl 1:53-9.

- Wiegand A, Attin T. Randomised in situ trial on the effect of milk and CPP-ACP on dental erosion. *J Dent*. 2014;42(9):1210-5.
- Wiegand A, Meier W, Sutter E, Magalhaes AC, Becker K, Roos M, Attin T. Protective effect of different tetrafluorides on erosion of pellicle-free and pellicle-covered enamel and dentine. *Caries Res*. 2008;42(4):247-54.
- Wiegand A, Muller J, Werner C, Attin T. Prevalence of erosive tooth wear and associated risk factors in 2-7-year-old German kindergarten children. *Oral Dis*. 2006;12(2):117-24.
- Wiegand A, Schlueter N. The role of oral hygiene: does toothbrushing harm? *Monogr Oral Sci*. 2014;25:215-9.
- Wiegand A, Magalhães AC, Attin T. Is titanium tetrafluoride (TiF₄) effective to prevent carious and erosive lesions? A review of the literature. *Oral Health Prev Dent*. 2010;8(2):159-64.
- Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Kurokawa H. Ultrasonic determination of the effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste on the demineralization of bovine dentin. *Caries Res*. 2007;41(3):204-7.
- Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent*. 2006;34(3):230-6.
- Young A, Tenuta LM. Initial erosion models. *Caries Res*. 2011;45 (Suppl 1): 33-42.
- Zentner A, Duschner H. Structural changes of acid etched enamel examined under confocal laser scanning microscope. *J Orofac Orthop*. 1996;57(4):202-9.
- Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci*. 1996; 104(2):162-77.
- Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res*. 1995;9(3):214-30; discussion 231-4.
- Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate crème on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paediatr Dent*. 2011;21(5):374-81.

Apêndices

“Devemos ser gratos a Deus pelos pequenos detalhes.
Nos detalhes descobrimos o valor de uma realidade.
Olhar as miudezas da vida faz a diferença.

Padre Fábio de Mello

”

Apêndice 1

Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Prof.^a Dr.^a Daniela Rios e Catarina Ribeiro Barros de Alencar, responsáveis pela pesquisa intitulada “Efeito *in situ* da utilização de uma goma de mascar com caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao desafio erosivo inicial” o chamamos a participar como convidado desse nosso estudo. Esta pesquisa pretende avaliar a capacidade protetora de uma goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) contra a erosão dentária (condição em que se observa a perda mineral do esmalte dentário. Acreditamos que esta pesquisa irá ajudar a esclarecer o efeito desta goma de mascar na prevenção da erosão dentária. Para sua realização será feito o seguinte: Você, convidado terá que usar aparelhos no palato (“céu da boca”) sem grampos metálicos, sendo que neles serão fixados pedaços de dentes bovinos, previamente esterilizados. Inicialmente o aparelho deve ser utilizado durante a noite por 10 horas. Na manhã seguinte, este deverá ser removido para que o convidado tome seu café da manhã e realize sua higiene bucal, sendo que a seguir o dispositivo intrabucal deverá ser reinserido na boca. Após a recolocação do aparelho na boca o mesmo permanecerá por duas horas, sendo feito diferentes tratamentos que serão alternados com intervalo de uma semana. Em uma semana após uma hora e trinta minutos de uso, você mastigará goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo por 30 min, na outra semana você mastigará goma de mascar convencional e na outra semana não mastigará nada. Em todas as semanas após as duas horas de permanência do aparelho na boca você deverá ingerir 200 ml de bebida tipo cola por 5 minutos. Você irá ingerir a bebida apenas três vezes, havendo um intervalo de uma semana entre estas ingestões, não havendo assim nenhum risco de dano aos seus dentes. Durante o período de permanência do aparelho na boca, o convidado não deve consumir alimentos e bebidas (exceto água). A higiene bucal também deverá ser feita com o aparelho fora da boca. O uso do aparelho não causa dor, no entanto dependendo da sensibilidade individual poderá causar desconforto passageiro e dificuldade na pronúncia das palavras. No entanto, este será utilizado descontinuamente e por apenas

duas horas, não alterando sua qualidade de vida ou rotina. A sensação de mascar o chiclete com aparelho é semelhante à sem aparelho, pois sua localização no céu da boca não interfere na mastigação. Desta forma, o convidado que não sente desconforto em mascar chiclete, também não sentirá caso aceite participar da pesquisa. Cabe ressaltar que o tempo de mastigação é curto não trazendo consequências negativas às articulações bucais e faciais. Não existe benefício específico para o convidado que aceite participar dessa pesquisa. No entanto caso os resultados deste trabalho sejam positivos, após estudos clínicos, esta terapia poderá beneficiar os indivíduos que apresentem lesões de erosão. O uso deste aparelho é importante, pois permite a nós pesquisadores, realizar o experimento simulando os eventos que ocorrem na boca de forma fiel, sem trazer nenhum efeito colateral aos dentes dos convidados, por quem os aparelhos são utilizados. Cabe ressaltar que não haverá nenhum gasto para os convidados envolvidos na pesquisa, visto que esta será realizada enquanto o convidado estiver presente na Faculdade, em horários que não interfiram em suas atividades curriculares. Embora não sejam previstos riscos aos participantes do estudo, os pesquisadores garantem a indenização ao convidado diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Asseguramos que o convidado apresenta plena liberdade em aceitar ou recusar o nosso convite, tendo o direito de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, sem penalização alguma. Além disso, será preservado o sigilo das informações coletadas e a privacidade dos participantes da pesquisa. Estando de acordo em participar da pesquisa o aceite será formalizado através da assinatura do presente “TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO”, em duas vias, sendo que uma delas será entregue a você, convidado da pesquisa e a outra ficará de posse do pesquisador responsável. Qualquer dúvida ou maiores esclarecimentos sobre sua participação na pesquisa, você poderá entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis pelo projeto através dos telefones: Catarina Ribeiro Barros de Alencar (catarina.rba@gmail.com): (83) 998221997, Maisa Camillo Jordão (maisacjordao_usp@hotmail.com): (14) 98114-1669; Daniela Rios (daniriosop@yahoo.com.br): (14) 98115-7718 / (14) 3224-3390; Isabela Maníglia Mesquita (isabela.mesquita@usp.br): (19) 98127-9112. Em caso de reclamações em relação à pesquisa entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa-FOB/USP, à Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75, Vila Universitária, ou pelo telefone (14)3235-8356, e-mail: cep@fob.usp.br. Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a)

portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes,

ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o sujeito da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica). Por fim, como pesquisador (a) responsável pela pesquisa, comprometo-me a cumprir todas as exigências contidas no item IV.3 da resolução do CNS/MS n. 466 de dezembro de 2012, publicada em 13 de junho de 2013. Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias (uma via para o sujeito da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término.

Bauru, 06 de fevereiro de 2014

Assinatura do sujeito da pesquisa

Assinatura do pesquisador

Apêndice 2

Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

INSTRUÇÕES PARA AS FASES *IN SITU*

1. O aparelho deve ser instalado na noite anterior (3ª feira) a realização do experimento (às 22 horas), após a última higiene bucal e deve ser utilizado até a hora do experimento, sendo que não pode ser utilizado na alimentação e consumo de bebidas, inclusive água. Nestes períodos o aparelho deve ser armazenado no recipiente plástico envolto em gaze umedecida em água.
2. No dia seguinte (4ª feira-área verde), o voluntário comparecerá à Odontopediatria às 08:00h para escovação supervisionada. Das 8 às 9 h o aparelho não será utilizado e será mantido armazenado. Às 9:00h ocorrerá a instalação do aparelho, sendo que o mesmo será utilizado até as 10:30h. Neste mesmo horário, o voluntário irá mastigar uma unidade de goma de mascar por trinta minutos. Às 11:00h o voluntário retornará à Odontopediatria para finalização desta etapa. Nesse momento, o voluntário irá retirar o dispositivo intrabucal para imersão deste em refrigerante tipo cola por 5 minutos.
3. Este protocolo será realizado uma vez na semana, por 3 semanas com intervalo de uma semana entre elas, no dia estipulado pelo responsável pela pesquisa (geralmente 4ª feira-área verde).
4. Ao término de cada fase, o aparelho deverá ser entregue ao pesquisador juntamente com o Kit.
5. Os blocos de esmalte devem permanecer embutidos nos aparelhos durante todo o experimento, em caso de problemas com o disposto intrabucal ou caso o voluntário tenha qualquer dúvida durante a realização do protocolo, favor entrar em contato imediatamente com um dos pesquisadores responsáveis – Catarina: (14) 981141669.
Isabela: (19) 981279112.

Agradecemos a colaboração.

Anexo

“

Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.

Chico Xavier

”

Anexo 1

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU-
USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO IN SITU DA UTILIZAÇÃO DE UMA GOMA DE MASCAR COM CASEÍNA FOSFOPEPTÍDEA FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO (CPP-ACP) PREVIAMENTE AO DESAFIO EROSIVO INICIAL

CAAE: 24216514.8.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 553.729

Data da Relatoria: 26/02/2014

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Esse projeto foi considerado APROVADO na reunião ordinária do CEP de 26.2.2014, com base nas normas éticas da Resolução CNS 466/12. Ao término da pesquisa o CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatório final. Os relatórios parciais deverão estar de acordo com o cronograma e/ou parecer emitido pelo CEP. Alterações na metodologia, título, inclusão ou exclusão de autores, cronograma e quaisquer outras mudanças que sejam significativas deverão ser previamente comunicadas a este CEP sob risco de não aprovação do relatório final. Quando da apresentação deste, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação assinados e rubricados.

BAURU, 12 de Março de 2014

Assinador por:
Flaviana Bombarda de Andrade
(Coordenador)