UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

CATARINA RIBEIRO BARROS DE ALENCAR

**Efeito *in situ* de uma goma de mascar contendo caseína
fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na erosão
dentária**

BAURU
2013

CATARINA RIBEIRO BARROS DE ALENCAR

**Efeito *in situ* de uma goma de mascar contendo caseína
fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na erosão
dentária**

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

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

Versão corrigida

BAURU
2013

Al25e Alencar, Catarina Ribeiro Barros de
Efeito *in situ* de uma goma de mascar contendo
caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo
(CPP-ACP) na erosão dentária./ Catarina Ribeiro
Barros de Alencar. – Bauru, 2013.
151 p. : il. ; 31cm.

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

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

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: 169/2011
Data: 01 de Dezembro de 2011

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
Associações	Conselho Regional de Odontologia - Paraíba (CRO) Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO) International Association for Dental Research (IADR)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas de grande importância em minha vida. Aqueles que acompanham o trilhar da minha formação desde quando tudo era apenas um grande sonho...

Aos meus pais, Benemar e Fátima,

Pela confiança em mim depositada e pelo anseio de me ver crescer... Essa minha conquista é de vocês! Pai, tu és o meu maior exemplo de dedicação à carreira docente, Mãe, em ti me espelho para dá o meu melhor em tudo que eu me propuser a fazer! Eu amo muito vocês!

Aos meus irmãos, Gustavo e Mariana,

Pelo incentivo em cada palavra de apoio, afinal, é muito difícil sair do aconchego do lar para aventurar-se em um território, até então, desconhecido. Agradeço por acreditarem no meu sonho... Cada um a sua maneira, a minha irmã, a racionalidade em pessoa, o meu irmão, pura generosidade, vocês moram no meu coração!

Ao meu noivo, Juliherme,

Ter você ao meu lado nessa caminhada, compartilhando desafios e conquistas foi um presente de Deus. Você sabe que não foi fácil... mas, nós conseguimos concluir essa etapa meu amor!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus,

Pela oportunidade de recomeçar a cada novo dia, confiante e amparada por teu amor e infinita bondade, certa de que teus planos são os melhores para minha vida.

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

Pela orientação desse trabalho e por me fazer acreditar que os esforços dignificam o trabalho. Agradeço a dedicação com que me orientou nesse e em outros projetos e pesquisas que desenvolvemos ao longo desses dois anos. Agradeço a compreensão durante o primeiro ano do mestrado, nos momentos em que precisei ocupar, por mais que isso não seja possível, dois lugares ao mesmo tempo. Sem o seu apoio, nada disso seria possível! Saiba que levarei comigo todos os seus ensinamentos e que lembrarei de cada atitude sua de amor à profissão!

À prof^a Dr^a Maria Aparecida Andrade Moreira Machado,

Pelo apoio e pelas oportunidades proporcionadas. Agradeço o intermédio no contato com a Kraft Foods/Cadbury Adams, viabilizando a aquisição do material necessário para a realização do estudo.

Aos meus voluntários, Ana Paula, Brunna, Daniela, Franciny, Gabriela, Juliherme, Mariana, Nádia, Priscilla, Tamires e Viviane,

Agradeço a prontidão com que se disponibilizaram em participar desse estudo. Sou grata pela dedicação de vocês e por terem modificado as suas rotinas durante alguns dias, em benefício dessa pesquisa. A todos vocês, muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Aos professores do departamento de odontopediatria da FOB- USP, Prof^a Dr^a Salete Moura Bonifácio da Silva, Prof^a Dr^a Thaís Marchini de Oliveira e Prof Dr José Eduardo de Oliveira Lima

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!

A todos os meus professores da graduação, na Universidade Estadual da Paraíba, em especial ao meu orientador de iniciação científica, Prof Dr Alessandro Leite Cavalcanti,

Por me apresentar à pesquisa científica e exacerbar em mim o encantamento pela carreira docente! Lembro como se fosse hoje de cada bronca recebida, do quanto ficava temerosa quando me pedia para auxiliar colegas em outras pesquisas, já que não me via capacitada para tanto... Agradeço pela minha formação inicial e pelo incentivo dado para que eu continuasse a caminhada!

Aos mestres do Centrinho (HRAC-USP) que me deram a honra de aprimorar os meus conhecimentos em Dentística, Aparício, LÍlian e Nádia,

Pela paciência e pela compreensão quando do início do curso de mestrado. Vocês me permitiram vivenciar uma das mais importantes experiências da minha vida! Com vocês aprendi não apenas recursos e técnicas em odontologia, eu aprendi a ser mais humana, a ouvir e tentar compreender aqueles que podem de alguma forma, receber a nossa atenção.

As amigas Adriana, Ana Cristina, Andréa, Camila, Flávia, Jozely, Luciana, Melissa, Raphaela, Tamires e Viviane,

Pela compreensão nos momentos em que estive ausente e por me substituírem para que eu pudesse dá os primeiros passos rumo ao meu sonho.

Ao Prof Dr Heitor Marques Honório,

Pela disponibilidade em ajudar e pela paciência ao contribuir com a realização da estatística desse trabalho.

Aos meus pais, Benemar e Fátima,

O apoio de vocês é fundamental em tudo... e na minha formação profissional não seria diferente! Agradeço por me permitirem tomar as minhas próprias decisões e acima de tudo investirem nos meus projetos de vida.

Ao meu amor, Juliherme,

Por me acalmar nos momentos em que acreditei não ser capaz de conduzir essa pesquisa, por toda a ajuda nas tantas etapas que compuseram esse estudo, por se manter firme ao meu lado, mesmo em meio ao cansaço, para não me deixar sozinha nos finais de semana, feriados e madrugadas em que estive no laboratório pesquisando... Você renova a minha fé de que a dedicação é a chave do sucesso profissional. O teu amor simplifica os obstáculos e me torna serena para enfrentar os desafios! Amo você!

A todos os meus familiares, avós, tias, tios, primas e primos, aos meus sogros, aos meus cunhados e cunhadas, e aos queridos amigos, 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 Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, através de seu diretor, Prof Dr José Carlos Pereira e à comissão de pós-graduação desta instituição, presidida pelo Prof Dr Paulo César Rodrigues Conti,

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

Às instituições de fomento CAPES e FAPESP,

Pelo apoio financeiro concedido.

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

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

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

Pela permissão de uso dos equipamentos necessários a realização desse estudo.

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

Pela solicitude e disponibilidade em ajudar.

Ao Cirurgião Buco-Maxilo Marcos Campelari,

Pela doação dos dentes humanos utilizados nessa pesquisa.

À Central de Esterilização Sterileno,

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

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, Aninha, Adriana, Gabriel, Priscilla, Nádia, Juliana e Tatiana,

Pela amizade e companheirismo durante os dois anos do curso. Cada um de vocês é especial à sua maneira, cada um se destaca por uma característica especial... A Aninha pela amor e competência no atendimento aos pacientes, a Dri, pelo jeito meigo e afetuoso que encanta as criancinhas, o Gabriel pelo dinamismo e pelo entusiasmo com a odontopediatria, A Pri pelo jeitinho delicado e pela extrema dedicação ao que faz, A Ná é surpreendente quando se coloca à frente da plateia, ela tem o dom de transmitir com clareza e se fazer compreender, A Ju é um exemplo de amor à odontologia, lembro que via seus olhinhos brilhando quando era requisitada a orientar algum aluno na clínica da graduação, já a Tati, além de ter uma excelente técnica é fantástica no manejo do comportamento dos pacientes... E em meio a tantos atributos, tenho certeza de que muito aprendi com cada um de vocês! Muito obrigada!

Agradeço em especial, as colegas de pós graduação orientadas pela Profa Dani, Gabriela, Franciny e Fernanda,

Pelas oportunidades que tivemos de enfrentar novos desafios na pesquisa científica. Fran, você é uma pessoa adorável, tenho certeza de que o seu futuro será próspero! Gabi, você é uma amiga querida, agradeço a oportunidade que tivemos de trabalhar juntas e estou certa de que nossa parceria será sempre promissora. Nanda, você é uma das pessoas mais cativantes que eu já conheci... é daquelas que a gente sabe que pode contar, no que for preciso! Você foi mais uma grata surpresa que Bauru me proporcionou, ainda vamos compartilhar muitas histórias...

Agradeço em especial a minha colega de mestrado, vizinha e amiga Soraia,

Ter você morando pertinho de mim foi mais um presente de Deus! Agradeço por me ouvir e me apoiar nos momentos difíceis que dividimos em longas conversas... Agradeço também os bons momentos que compartilhamos com a sua família. Tenho certeza de que você irá brilhar na carreira e eu quero poder aplaudi-la! Conta sempre comigo minha amiga!

Aos alunos de graduação em Odontologia da FOB-USP,

Pela oportunidade de aguçarem em nós, aprendizes da arte de ensinar, o amor à profissão.

Aos pacientes da clínica didática,

Por esperarem, pacientemente, o nosso empenho para que conseguíssemos o melhor registro do caso clínico, permitindo que obtivéssemos um ótimo banco de imagens a serem utilizadas no futuro!

A todos que ao longo desse período me auxiliaram direta ou indiretamente e me fizeram ter a certeza de que quando se tem um objetivo, toda dedicação e esforço valem a pena, muito obrigada!

*“... Eu aprendi
que são os pequenos acontecimentos
diários que tornam a vida espetacular...”*

William Shakespeare

RESUMO

O presente trabalho avaliou o efeito *in situ* de uma goma de mascar comercialmente disponível contendo caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na erosão dentária. Para a primeira etapa do estudo (capacidade remineralizadora) utilizaram-se 72 blocos de esmalte humano selecionados pela dureza de superfície (SH) e erodidos *in vitro* pela imersão em Coca Cola®, pH 2,4 por 3 min (avaliação da dureza - SH_d). Os blocos foram randomizados entre os grupos: GI Trident Fresh® (sem CPP-ACP), GII controle (sem chiclete) 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 um chiclete (30 min) e em todas as fases após 2h, a dureza foi avaliada (SH_{f1}). Os blocos foram reposicionados e os dispositivos usados por mais 22 h (+ 3 ciclos de mastigação de chiclete - GI e GIII). A dureza foi reavaliada (SH_{f2}) para cálculo do percentual de recuperação de dureza (%SHR) após 2 e 24h. Na segunda etapa do estudo (ciclagem erosiva) 48 blocos de esmalte humano 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 um chiclete 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 desafio erosivo prolongado, o Trident Total® ($5,2 \pm 2,8$ µm) e o Trident Fresh® ($3,8 \pm 1,5$ µm) reduziram significativamente o desgaste dentário em relação ao grupo controle ($6,8 \pm 3,5$ µm), no entanto, não houve diferença significativa entre os chicletes ($p>0,05$). Conclui-se 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, apesar da goma de mascar convencional

apresentar efeito na inibição do desgaste erosivo, o comportamento da goma de mascar com incorporação de CPP-ACP foi similar.

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

ABSTRACT

In situ effect of chewing gum containing casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate on dental erosion

This study evaluated the *in situ* effect of a commercial chewing gum containing casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on dental erosion. On the first stage (remineralizing effect) 72 human enamel blocks, which were selected by surface hardness (SH_i) and eroded *in vitro* by immersion in cola drink, pH 2,4 for 3 minutes (hardness evaluation - SH_d) were used. Blocks were randomized into 3 groups: GI Trident Fresh® (conventional gum, without CPP-ACP), GII control (no gum) and GIII Trident Total® (with CPP-ACP). Twelve volunteers wore intraoral palatal devices for 24 h in 3 crossover phases. In phases of GI and GIII volunteers chewed a gum (30 min) and in all phases after 2h, the surface hardness was evaluated (SH_{f1}). The blocks were reinserted and the devices used for additional 22h (+ 3 cycles of chewing gum - GI e GIII). The surface hardness was reassessed (SH_{f2}) to calculate the percentage of surface hardness recovery (%SHR) after 2 and 24h. In the second stage (erosive cycling) 48 healthy human enamel blocks were randomized between groups (GI, GII and GIII) and 8 volunteers wore intraoral palatal devices in crossover phases of 7 days each (washout of 7 days). The cycling protocol consisted of 4 daily immersions of the intraoral device into 150 ml of cola drink for 5 min. In groups I and III after each erosive challenge and oral device reinsertion into oral cavity, the volunteers chewed a gum for 30 min. The enamel surface alterations were measured by profilometry (µm). Data were analyzed by Anova (Two way - stage 1, One way - stage 2) and Turkey's test ($\alpha=0,05$). The results of percentage of surface hardness recovery showed significant differences for factors groups and time ($p<0.05$). Trident Total® (2h = 50.0%; 24h = 95.9%) showed higher percentage of surface hardness recovery than the Trident Fresh® (2h = 30.0%; 24h = 71.1%) and control group (2h = 15.7% 24h = 40.9%). In the prolonged erosive challenge, Trident Total® ($5.2 \pm 2.8 \mu\text{m}$) and Trident Fresh® ($3.8 \pm 1.5 \mu\text{m}$) significantly reduced tooth wear compared to control group ($6.8 \pm 3, 5 \mu\text{m}$). However, there was no significant difference between chewing gums. It is concluded that the saliva remineralizing effect increased after the use of conventional chewing gum and was enhanced by prolonged period of remineralization and by the presence of CPP-ACP in the chewing gum. However for the adopted erosive challenge, despite the

conventional chewing gum being able to diminish erosive wear, the chewing gum containing CPP-ACP showed similar effect.

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

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Dente fixado em placa acrílica cristal com godiva termo-ativada ...	61
FIGURA 2 Corte méso-distal duplo acima da junção amelo-cementária	61
FIGURA 3 Aparelho de corte de precisão montado com discos diamantados e espaçador metálico de 4mm	61
FIGURA 4 Demarcação com lápis grafite para determinação das áreas planas	62
FIGURA 5 Fatia de dente fixada para realização de corte simples para separação das áreas planas demarcadas	62
FIGURA 6 Fragmentos fixados para realização de corte duplo para obtenção dos espécimes	62
FIGURA 7 Corte duplo para obtenção dos espécimes	62
FIGURA 8 Espécimes 4x4 mm	62
FIGURA 9 Espécime fixado com cera com o esmalte voltado para a placa acrílica para a planificação da dentina	62
FIGURA 10 Espécime após a planificação da dentina	62
FIGURA 11 Espécime fixado com cera com a dentina voltada para a placa acrílica para o polimento do esmalte	63
FIGURA 12 Espécime após o polimento final	63
FIGURA 13 Espécimes armazenados em recipiente plástico com tampa	63
FIGURA 14 Espécimes separados por compressas de gaze embebidas em água deionizada	63
FIGURA 15 Microdurômetro Shimadzu acoplado ao microcomputador	64
FIGURA 16 Penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP	64
FIGURA 17 Determinação dos limites da indentação em esmalte hígido (imagem em maior aumento)	64
FIGURA 18 Espécimes embalados antes (A) e após (B) a esterilização	65

FIGURA 19 Desmineralização dos espécimes (A) seguida da lavagem com água deionizada (B)	65
FIGURA 20 Dispositivo e guia de resina composta	67
FIGURA 21 Marcação do espécime	67
FIGURA 22 Perfilômetro Marh com software XCR 20, com ênfase para o dispositivo de posicionamento acoplado à mesa do equipamento	67
FIGURA 23 Registro da posição inicial do espécime para avaliação do perfil (A) Escala milimetrada na base (B) Escalas milimetradas no chariot	68
FIGURA 24 Percurso da ponta sobre o espécime (A) Gráfico inicial (B)	68
FIGURA 25 Proteção da área controle com esmalte cosmético de unha (A) Espécime com áreas controle protegidas (B)	68
FIGURA 26 Dispositivo intrabucal finalizado sobre modelo de gesso. (A) Etapa Remineralização. (B) Etapa Ciclagem erosiva, espécimes protegidos nas áreas controles por esmalte cosmético de unhas recoberto por cera	70
FIGURA 27 Ciclagem erosiva (A) Material utilizado (B) Imersão do dispositivo na bebida ácida, com ênfase para o contato direto dos espécimes com o líquido	72
FIGURA 28 Determinação do perfil de desgaste (espécime grupo Trident Fresh®)	78
FIGURA 29 Determinação do perfil de desgaste (espécime grupo Controle)	78
FIGURA 30 Determinação do perfil de desgaste (espécime grupo Trident Total®)	79

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Constituintes principais das gomas de mascar avaliadas 58

TABELA 2 Médias e desvio-padrão (dP) dos percentuais de recuperação de dureza (%SHR) dos grupos em estudo, nos diferentes tempos de remineralização *in situ*..... 77

TABELA 3 Médias do desgaste (μm) e desvio-padrão (dP) dos grupos em estudo..... 79

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

®	Marca registrada
CPP-ACP	Caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo
<i>in situ</i>	do latim, em sítio, no local (no caso, a cavidade bucal)
pH	Potencial hidrogeniônico
pKa	Potencial de equilíbrio
<i>in vitro</i>	do latim, em laboratório
<i>in vivo</i>	do latim, em ser humano
%	Por cento
p	Nível de significância
<	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, Trademark, Marca registrada
OR	do inglês, odds ratio, razão de chances
ppm	Parte por milhão
AmF	Fluoreto de amina
NaF	Fluoreto de sódio
μm	Micrometro
h	Horas
n	Número amostral
N	Newton

CPP-ACPF	Caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo fluoretado
SH _i	Dureza superficial inicial
SH _d	Dureza superficial pós desmineralização
SH _f	Dureza superficial final
SH _{f1}	Dureza superficial final após 2 horas
SH _{f2}	Dureza superficial final após 24 horas
cm	Centímetro
mm	Milímetro
rpm	Rotações por minutos
g	Gramas
kHz	Quilohertz
°C	Grau Celsius
KHN	Valor de dureza Koop
ml	Mililitros
%SHR	Percentual de recuperação de dureza
±	Mais ou menos
dP	Desvio padrão
<i>ex vivo</i>	do latim, realizado fora do organismo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	26
2. REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1 Erosão dentária	29
2.1.1. Definição e etiologia	29
2.1.2. Prevalência e fatores de risco associados	32
2.1.3. Prevenção e controle	36
2.2 A Caseína e o CPP-ACP	40
2.3 O CPP-ACP na erosão dentária	44
3. PROPOSIÇÃO	53
4. MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1 Aspectos éticos	57
4.2 Delineamento experimental	57
4.3 Preparo dos espécimes de esmalte	58
4.3.1. Obtenção dos dentes humanos	58
4.3.2. Obtenção dos blocos de esmalte, planificação e polimento dos espécimes	59
4.4 Avaliação da dureza superficial Inicial (SH_i) e seleção dos espécimes de esmalte	63
4.5 Esterelização dos blocos de esmalte	65
4.6 Desmineralização dos blocos de esmalte	65
4.7 Avaliação da dureza superficial pós desmineralização (SH_d)	66
4.8 Avaliação da perfilometria inicial	66
4.9 Seleção dos voluntários	69
4.10 Preparo do dispositivo intrabucal palatino	69
4.11 Procedimentos intrabucais	70
4.12 Avaliação da dureza superficial pós remineralização (SH_f)	72

4.13 Avaliação do desgaste - Perfilometria final	73
4.14 Análise estatística	74
5. RESULTADOS	77
5.1 Dureza	77
5.2 Desgaste	78
6. DISCUSSÃO	83
6.1 Considerações sobre a metodologia empregada	83
6.2 Considerações sobre os resultados	87
7. CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS	101
APÊNDICES	123
ANEXO	151

Introdução

“

*Para realizar grandes conquistas,
devemos não apenas agir, mas também
sonhar; não apenas planejar, mas
também acreditar.*

”

Anatole France

1. Introdução

Os levantamentos conduzidos a cerca da prevalência da erosão dentária apresentam tendências variáveis na literatura dos últimos vinte anos (JAEGGI; LUSSI, 2006; HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011), muito embora, alguns estudos longitudinais tenham observado um aumento de sua incidência (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001; DUGMORE; ROCK, 2003; EL AIDI et al., 2010). Assim sendo, a busca por conhecimento sobre a dinâmica de desenvolvimento e as possíveis alternativas de tratamento e/ou prevenção vem sendo cada vez maior.

A erosão dentária é classicamente descrita como uma perda de estrutura dentária irreversível, devido à ação de ácidos de origem extrínseca e/ou intrínseca (ECCLES, 1979; IMFELD, 1996; MEURMAN; TEN CATE, 1996; SCHEUTZEL, 1996; ZERO, 1996; O'SULLIVAN et al., 1998; RYTOMAA et al., 1998; LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; BARTLETT, 2006; MAGALHÃES et al., 2009c). No entanto, esse tipo de lesão não pode ser caracterizado de forma simplista, como uma perda irreversível do tecido dentário, pois em estágios iniciais há apenas uma desmineralização superficial, passível de remineralização (AMAECHI; HIGHMA, 2001; AMAECHI; HIGMAM 2005). Partindo desse princípio, a terminologia “erosão dentária” foi subdividida em “erosão” e “desgaste dentário erosivo” (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011; SHELLIS et al., 2011). O termo erosão configura a perda da integridade estrutural e resistência mecânica causada pelo efeito do ácido sobre a superfície do dente, condição caracterizada pelo amolecimento do esmalte. O processo subsequente de perda de estrutura dentária induzido pelo desafio erosivo prolongado com repetidos eventos de amolecimento corresponde ao desgaste dentário erosivo (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011; SHELLIS et al., 2011).

Atualmente, os ácidos extrínsecos têm sido considerados um dos principais fatores relacionados com a ocorrência de erosão dentária em função de uma mudança dos hábitos dietéticos da população, que tem consumido com maior frequência alimentos ácidos (MONTEIRO et al., 2000; LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; BARTLETT, 2006; ABIR, 2011).

Vários tipos de tratamentos foram propostos ao longo dos últimos anos para as lesões de erosão dentária e a maioria faz uso de fluoretos e minerais como cálcio e fosfato aplicados topicamente sobre o esmalte nas formas de solução, gel ou verniz (ATTIN; ZIRKEL; HELLWIG, 1998; PASSOS et al., 2010; VONGSAWAN; SURARIT; RIRATTANAPONG, 2010; ALTINOK et al., 2011; HOVE et al., 2011; MAGALHÃES et al., 2011; WEGEHAUPT et al., 2011). Dentro da filosofia preventiva tem-se ainda recomendado a utilização de gomas de mascar após o desafio erosivo para facilitar a remineralização da superfície dentária amolecida (RIOS et al., 2006b; RIOS et al., 2008).

A goma de mascar Trident Total® (Kraft Foods/Cadbury Adams, Bauru, SP, Brasil) contém caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP, patenteado como Recaldent®), uma proteína derivada do leite (SHEN et al., 2001; IJIMA et al., 2004; KUMAR; ITTHAGARUN; KING, 2008), responsável pela biodisponibilização de fosfato e cálcio no ambiente bucal (LENNON et al., 2006). O CPP-ACP pode se ligar ao biofilme dentário, à estrutura dentária (hidroxiapatita) e aos tecidos moles do ambiente bucal com a proposta de inibir a desmineralização e potencializar a remineralização de lesões desmineralizadas do esmalte dentário, dentre as quais as lesões erosivas podem ser consideradas.

Desta forma, considerando a importância do tema e a escassez de evidências científicas que comprovem a eficácia de agentes terapêuticos distintos dos compostos fluoretados na prevenção de lesões erosivas, a avaliação do efeito da goma de mascar contendo CPP-ACP na remineralização de lesões iniciais de erosão e no desenvolvimento de lesões de desgaste dentário erosivo reveste-se de grande importância. Para tanto, estudos *in situ* mimetizam melhor a realidade clínica para obtenção de informações científicas (ZERO, 1996; WEST; DAVIES; AMAECHI, 2011) e podem nortear no futuro o delineamento de estudos clínicos randomizados.

“

*Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e,
então, com todo o coração, dedicar-se a
ele.*

”

Buda

Revisão de Literatura

2. Revisão de Literatura

2.1. Erosão dentária

2.1.1. Definição e etiologia

Em muitos países a incidência da doença cárie tem declinado, enquanto tem sido verificado aumento no risco de desenvolvimento de outras lesões dentárias (JARVINEN; RYTOMAA; HEINONEN, 1991; LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; BRASIL, 2011) dentre as quais o desgaste dentário tem apresentado significativo aumento em sua prevalência (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001; HOLBROOK; ARNADOTTIR; KAY, 2003; DUGMORE; ROCK, 2003; LUSSI et al., 2009; EL AIDI et al., 2010).

O desgaste dentário é, na realidade, um processo cumulativo e multifatorial em que erosão, atrição e abrasão podem agir sinergicamente. Apesar de não haver um consenso quanto aos critérios diagnósticos que diferenciam essas lesões entre si (IMFELD, 1996; MOSS, 1998), tem sido considerado que na infância e na adolescência, a erosão representa o maior fator contribuinte para a perda do tecido dental duro (DUGMORE; ROCK, 2004b).

Enquanto que a severa fricção dente-a-dente culmina com o desgaste chamado atrição, a fricção de um agente externo sobre o dente causa o que se conhece por abrasão, que geralmente ocorre como resultado de um zelo excessivo em escovar os dentes (GRIPPO; SIMRING; SCHREINER, 2004).

A erosão dentária é clinicamente definida como o resultado físico de uma perda progressiva e crônica de tecido dental duro causada por um processo químico influenciado por ácidos intrínsecos ou extrínsecos, sem o envolvimento de bactérias (TEN CATE; IMFELD, 1996; LINNETT; SEOW, 2001; GANSS, 2006). O ataque ácido conduz ao amolecimento progressivo da superfície dentária, resultando em uma perda irreversível do tecido duro (LUSSI, 2006). Deste modo, fica claro haver uma distinção entre o fenômeno de erosão e desgaste dentário erosivo (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011; SHELLIS et al., 2011). Em estágios iniciais do processo erosivo, há apenas uma desmineralização superficial sem perda de

estrutura, que por sua vez é passível de remineralização (AMAECHI; HIGHAM, 2001; AMAECHI; HIGHAM, 2005). Assim sendo, o termo erosão refere-se à perda da integridade estrutural e resistência mecânica causada pelo efeito do ácido sobre a superfície do dente, ou seja, quando há o amolecimento do esmalte, enquanto que o processo subsequente de perda de estrutura dentária induzido pelo desafio erosivo prolongado com repetidos eventos de amolecimento ou combinados aos fatores mecânicos (abrasão e atrição) corresponde ao desgaste dentário erosivo (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011; SHELLIS et al., 2011).

Nos estágios iniciais, as propriedades mecânicas e físicas do dente são modificadas, visto que os minerais são liberados para o agente erosivo. Nesse processo, esmalte e dentina são afetados de maneira diferente (LUSSI et al., 2011). Por causa do conteúdo mineral muito elevado, a erosão do esmalte é inicialmente manifestada como desmineralização parcial da superfície, levando ao amolecimento e aumento da rugosidade. A dentina, por conter menos mineral e mais material orgânico, apresenta inicialmente desmineralização na fronteira entre a dentina peri e intertubular. Posteriormente, há perda de dentina peritubular, alargamento dos túbulos e, finalmente, desmineralização da dentina intertubular com exposição da matriz orgânica (MEURMAN; DRYSDALE; FRANK, 1991; KINNEY et al., 1995).

Em estágios mais avançados, continuando a exposição aos desafios químicos e mecânicos ocorre a perda de superfície, seja através de dissolução ou abrasão da superfície do esmalte frágil amolecida ou por meio de degradação enzimática ou mecânica da matriz de dentina exposta (SCHLUETER et al., 2011).

Até o momento não existe um dispositivo de diagnóstico disponível para detecção clínica precoce e quantificação da erosão dentária, sendo o aspecto clínico, o mais importante sinal para diagnosticar essas lesões (LUSSI et al., 2006). A aparência lisa e vítrea do esmalte, com a ausência de periquimácias e esmalte intacto na margem gengival, são alguns sinais de erosão na face vestibular ou lingual do dente. Com a progressão da lesão, alterações na morfologia resultam em uma concavidade no esmalte, cuja largura excede claramente a sua profundidade. A presença de erosão oclusal é caracterizada pelo arredondamento das cúspides e elevação das restaurações acima do nível das superfícies dos dentes adjacentes, em casos mais severos toda a morfologia da superfície oclusal desaparece (LUSSI; JAEGGI, 2008).

Assim, o desgaste dentário erosivo pode comprometer a saúde dos dentes individualmente ou de toda a dentição, com manifestações variando de severa perda da estrutura dentária, sensibilidade dentinária, alteração da oclusão, dano estético e até mesmo a presença de abscessos nos dentes afetados (LUO et al., 2005). A taxa e gravidade do resultado do desgaste erosivo resultam da interação entre vários fatores químicos, biológicos e comportamentais (LUSSI, 2006; MAGALHÃES et al. 2009c, HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011) que ajudam a explicar por que alguns indivíduos apresentam mais erosão do que outros, mesmo quando expostos aos mesmos desafios erosivos em suas dietas (LUSSI; JAEGGI, 2008).

Dentre os fatores químicos incluem-se o pH, capacidade tampão, tipo de ácido (valores de pKa), aderência do produto à superfície dentária, as propriedades quelantes e as concentrações de cálcio, fosfato e flúor do agente erosivo (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004). Os fatores biológicos dizem respeito às características bucais do indivíduo, principalmente da saliva (fluxo, composição e capacidade tampão), da película adquirida (propriedades de difusão e a espessura), da composição e estrutura do dente (por exemplo, o conteúdo de flúor), da anatomia dentária e oclusão, da anatomia de tecidos moles orais em relação aos dentes e os movimentos fisiológicos dos tecidos moles. Os fatores comportamentais estão relacionados aos hábitos alimentares (consumo excessivo de alimentos e bebidas ácidas) e às práticas de higiene bucal (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004). Todos esses fatores, em constante interação, podem atuar desgastando ou protegendo a superfície dentária (LUSSI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009c; LUSSI et al., 2011).

Evidências baseadas em relatos de caso, ensaios clínicos, levantamentos epidemiológicos, estudos em animais, *in vitro* e *in vivo* têm descrito os ácidos que podem originar erosão como sendo intrínsecos ou extrínsecos, provenientes do trato gastrointestinal e da dieta/ambiente, respectivamente (AMAECHI; HIGHAM, 2005).

Os ácidos extrínsecos incluem a dieta ácida (MILOSEVIC; LENNON; FEAR, 1997; KUNZEL; CRUZ; FISCHER, 2000), além de alguns medicamentos de uso crônico, drogas ilícitas, uso abusivo de bebidas alcoólicas, água de piscinas excessivamente cloradas ou fumaças industriais (SHAW; WEATHERILL; SMITH, 1998; AMAECHI; HIGHAM, 2005). Por outro lado, o ácido intrínseco refere-se ao ácido gástrico que ao retornar para a cavidade bucal por refluxos, vômitos ou

regurgitação entra em contato diretamente com as superfícies dentárias conduzindo também à erosão (BARTLETT, 2006).

Atualmente, os ácidos extrínsecos têm sido considerados um dos principais fatores relacionados com a ocorrência de erosão dentária em função de uma mudança dos hábitos dietéticos da população, que tem consumido com maior frequência alimentos ácidos (MONTEIRO et al., 2000; LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; BARTLETT, 2006; ABIR, 2011), comidas picantes (SHAW; WEATHERILL; SMITH, 1998), bebidas esportivas, sucos e chás de frutas (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004). Especialmente em crianças, adolescentes e adultos jovens, a erosão tem sido frequentemente relacionada ao consumo elevado de sucos de frutas, bebidas gaseificadas e refrigerantes, especialmente do tipo cola (MOYNIHAN; HOLT, 1996; NUNN et al., 2003; JENSDOTTIR; BARDOW; HOLBROOK, 2005; RIOS et al., 2007).

2.1.2. Prevalência e fatores de risco associados

A incidência e prevalência de erosão dentária têm sido crescentemente reportadas (NUNN, 1996; JAEGGI; LUSSI, 2006; HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011). O conhecimento a cerca 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).

Desde meados dos anos 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). Contudo, a comparação e interpretação desses estudos são complexas, em razão dos diversos índices utilizados (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001). 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 diferentes grupos etários e com diferentes abordagens estatísticas (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004).

No entanto, existe um consenso nas comunidades odontológicas e de pesquisa que o desgaste dentário erosivo tem se tornado mais prevalente, apesar de não existirem dados históricos que suportem tal constatação (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011).

Relatos de prevalência de desgaste erosivo variam amplamente na literatura, 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; LUSI, 2006).

Em contraste com a cárie dentária, a idade deve ser considerada para julgar se uma lesão é realmente patológica, ao passo que, 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 (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 (BARTLETT et al., 1998; PERES et al., 2005; CORRER et al., 2009) não apontaram diferença entre os gêneros.

O nível sócio econômico tem sido apontado como um fator associado 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) e 26,4% com erosão grau 2. 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 sua dentição decídua apresentaram um risco significativamente aumentado de erosão nos dentes permanentes ($p < 0,001$).

No estudo desenvolvido por Jarvinen, Rytomaa e Heinonen (1991) a cerca 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 da 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 a cerca dos fatores de risco para 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%. 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).

2.1.3. Prevenção e controle

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 adequadas medidas preventivas (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 suficientes medidas profiláticas (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001). Quando uma restauração torna-se inevitável, os preparos devem seguir os princípios de tratamento minimamente invasivo (LUSSI; JAEGGI, 2008). 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 seja esta 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 flúor (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, diminuindo 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; RIOS et al., 2006b) e sempre com cuidado de escovar delicadamente os dentes, usando uma escova macia e dentífrico 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 flúor é bem reconhecido por aumentar a remineralização e reduzir a desmineralização do esmalte em meio ácido, especialmente, em condições cariogênicas (DUCKWORTH, 1993; LAGERWEIJ; TEN CATE, 2002).

Uma vez que o flúor 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), monofluorfosfato (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 (SAXEGAARD; ROLLA, 1988).

Além da barreira mecânica, o fluoreto liberado do fluoreto de cálcio, juntamente com o fluoreto presente na saliva tem importante participação na remineralização de uma lesão erosiva. 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 (MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008).

Outra proposta que tem sido avaliada é a aplicação de xilitol (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998b; CHUNMUANG et al., 2007; SOUZA et al., 2010; ROCHEL et al., 2011), uma vez que tem sido verificado que, em altas concentrações, esta substância é capaz de penetrar em superfícies desmineralizadas e reduzir o coeficiente de difusão dos íons cálcio e fosfato (ARENDS et al., 1984).

Estudos em dentina têm avaliado o efeito protetor do chá verde (KATO et al., 2009) e o uso de clorexidina, como inibidores das metaloproteínases responsáveis pela degradação da matriz orgânica da dentina (MAGALHÃES et al., 2009b) com resultados promissores.

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 prevenção de 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 flúor 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).

Ademais, 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; LUSSI, 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; LUSSI, 1999; HALL et al., 1999; HARA et al., 2003). Além disso, foi constatado que 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).

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 dentifrício 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 sugerem 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, 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 lesões de subsuperfície (SHEN et al., 2001; IIJIMA et al., 2004; ITTHAGARUN et al., 2005; MORGAN et al. 2008; COCHRANE et al., 2012).

2.2. 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 caseinatos (KITTS, 2006). A caseína (do grego *caseus*, significa queijo) é o nome coletivo para os caseinatos, 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 (IIJIMA 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-o 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).

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 comprovado em diversos estudos (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).

Kumar, Itthagarun 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 remineralizante 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; IIJIMA 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 (IIJIMA 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 de mascar o chiclete 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. O chiclete contendo 56,4mg 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 ao chiclete adoçado com xilitol quanto ao contendo sorbitol resultou em um aumento dose-dependente da remineralização do esmalte.

Iijima et al. (2004) realizaram um estudo para investigar 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 um chiclete sem o CPP-ACP. Os voluntários utilizaram os dispositivos palatinos com os espécimes de esmalte humano contendo lesões desmineralizadas de subsuperfície e o chiclete era mascado 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 cáries proximais em adolescentes mediante o uso de gomas de mascar sem açúcar contendo 54 mg de CPP-ACP comparado a um chiclete 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 do chiclete 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 54mg de CPP-ACP utilizada mediante o referido protocolo foi capaz de retardar a progressão e acelerar a regressão de lesões de cáries 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).

2.3. O CPP-ACP na erosão dentária

Além de seu papel como agente remineralizante na prevenção da cárie dentária, recentes evidências têm demonstrado que a caseína fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) pode proteger os 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-cavitadas, 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) sugerem que o CPP-ACP pode exercer efeitos protetores na erosão dentária suprimindo a desmineralização, aumentando a remineralização ou atuando em 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: ou os agentes são adicionados a uma solução erosiva, ou eles 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) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar 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 a 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 MousseTM. 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 de 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 da Tooth MousseTM (RANJITKAR et al., 2009b).

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.

Além do possível efeito positivo do CPP-ACP em lesões de erosão, tem sido sugerido que o flúor pode ser estabilizado em nanocomplexos amorfos designados CPP-ACFP, e, portanto, podem permanecer disponíveis para promover remineralização (COCHRANE et al., 2008).

Nesse sentido, 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 a 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 de dureza médias 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.

Assim sendo, diante das evidências da eficácia do CPP-ACP (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) e do efeito protetor da goma de mascar em relação à prevenção da erosão (RIOS et al., 2006b; RIOS et al., 2008), se faz necessário explorar o potencial anti-erosivo do CPP-ACP adicionado à goma de mascar, uma vez que essa associação poderia potencializar o efeito do CPP-ACP, além da apresentação do nanocomplexo na forma de goma de mascar ser de fácil utilização e bastante aceitável por crianças e adolescentes.

Proposição

“

*Não basta dar os passos que nos devem
levar um dia ao objetivo, cada passo deve ser
ele próprio um objetivo em si mesmo, ao
mesmo tempo que nos levam para diante.*

Johann Goethe

”

3. Proposição

Este estudo *in situ* objetivou avaliar o efeito de uma goma de mascar contendo CPP-ACP sobre a erosão de esmalte de dentes permanentes, no que se refere à capacidade remineralizadora deste produto em lesões de erosão inicial após 2 e 24 horas de permanência dos espécimes *in situ* (variável de resposta - dureza superficial); e à capacidade protetora diante de desafio erosivo prolongado de 7 dias *in situ* (variável de resposta - desgaste).

As hipóteses nulas consideradas foram as seguintes:

1. Não há diferença no potencial remineralizador (avaliado pela dureza superficial) da saliva não estimulada (sem uso de goma de mascar), fluxo salivar estimulado (pelo uso de uma goma de mascar convencional) e fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (pelo uso da goma de mascar contendo CPP-ACP) após 2 horas.

2. Não há diferença no potencial remineralizador (avaliado pela dureza superficial) da saliva não estimulada (sem uso de goma de mascar), fluxo salivar estimulado (pelo uso de uma goma de mascar convencional) e fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (pelo uso da goma de mascar contendo CPP-ACP) após 24 horas.

3. Não há diferença no potencial remineralizador (avaliado pela dureza superficial) da saliva não estimulada (sem uso de goma de mascar), fluxo salivar estimulado (pelo uso de uma goma de mascar convencional) e fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (pelo uso da goma de mascar contendo CPP-ACP) entre os 2 períodos de tempo avaliados (2 horas e 24 horas).

4. Não há diferença na capacidade protetora (avaliada pelo desgaste) da saliva não estimulada (sem uso de goma de mascar), fluxo salivar estimulado (pelo uso de uma goma de mascar convencional) e fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (pelo uso da goma de mascar contendo CPP-ACP) após ciclagem erosiva de 7 dias.

“

*Que os vossos esforços desafiem as
impossibilidades, lembrai-vos de que as
grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.*

”

Charles Chaplin

Material e Métodos

4. Material e Métodos

4.1. ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo de pesquisa do presente estudo foi inicialmente 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). Os voluntários aceitaram participar do estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1).

Os dentes utilizados foram terceiros molares hígidos e inclusos, os quais foram obtidos através de doação feita pelo cirurgião-dentista responsável pelo atendimento do paciente que descartou o dente extraído (Apêndice 2). Os blocos de dentes foram esterilizados através de óxido de etileno.

4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este estudo *in situ* do tipo cruzado e cego (para o pesquisador) envolvendo um desenho aleatório foi desenvolvido em duas etapas com uma amostra formada por 12 voluntários.

Inicialmente foi realizada a etapa correspondente a remineralização dos blocos previamente desmineralizados (*in vitro*) após um período *in situ* de 2 horas e 24 horas de uso do dispositivo intrabucal palatino. Posteriormente realizou-se a etapa de ciclagem erosiva (4 imersões diárias de 5 min cada, durante 7 dias) em blocos de esmalte hígidos.

Um total de 144 blocos de esmalte foram selecionados pela dureza superficial inicial (SH) e distribuídos entre os três grupos de ambas as etapas (remineralização e ciclagem erosiva):

GI - Esmalte submetido ao desafio erosivo tratado com Trident Fresh®

GII - Esmalte submetido ao desafio erosivo sem tratamento

GIII - Esmalte submetido ao desafio erosivo tratado com Trident Total®

A tabela abaixo relaciona os ingredientes listados pelo fabricante dos dois tipos de goma de mascar avaliados.

Tabela 1. Constituintes principais das gomas de mascar avaliadas.

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®)

Os 72 espécimes utilizados na etapa de remineralização foram desmineralizados *in vitro* através da imersão em refrigerante tipo Cola (pH 2,4, 0,32 ppm F, Coca Cola®, Marília, SP, Brasil) sob agitação durante 3 minutos, sendo feita a avaliação da dureza superficial (SHd). Os espécimes selecionados foram aleatoriamente distribuídos entre os voluntários e entre os três grupos.

A análise quantitativa da remineralização e do desgaste foi realizada através dos testes de dureza superficial e perfilometria, sendo as variáveis de resposta, respectivamente o percentual de recuperação de dureza e o perfil de desgaste.

4.3. PREPARO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE

4.3.1. OBTENÇÃO DOS DENTES HUMANOS

Aproximadamente 128 terceiros molares inclusos hígidos foram coletados para a realização deste estudo. Os dentes foram doados por cirurgiões-dentistas responsáveis pelo atendimento do paciente que descartou o dente extraído. Os dentes foram inicialmente limpos com curetas periodontais (Duflex 55G/SS, White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e jato de bicarbonato (Dabi Atlante

Indústrias Médico Odontológicas Ltda, São Paulo, SP, Brasil). Foi feita uma inspeção visual dos dentes para exclusão daqueles com alterações visíveis no esmalte, dentre as quais lesões de mancha branca e trincas. Os dentes foram mantidos em solução de timol 0,1%, pH 7,0 (Laboratório de Bioquímica, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo) até a obtenção dos blocos de esmalte.

4.3.2. OBTENÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE, PLANIFICAÇÃO E POLIMENTO DOS ESPÉCIMES

Os dentes foram separados em superiores e inferiores, fixados com godiva termoativada no centro de uma placa de acrílico cristal (Figura 1) e seccionados no sentido méso-distal através de cortes ligeiramente acima da junção amelo-cementária (Figura 2), feitos por dois discos diamantados dupla face (XLI 2205, “high concentration”, 102 x 0,3 x 12, 7 mm / Extec Corp., Enfield, CT, USA / Ref: 12.205) separados por um espaçador de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) acoplados a um aparelho de corte de precisão Isomet Low Speed Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA) (Figura 3) com velocidade de 300 rpm, refrigerado com água deionizada. Devido às irregularidades e angulações do esmalte, as áreas planas e sem sucros, que possibilitavam a obtenção de fragmentos, foram demarcadas com lápis grafite nº5 (A. W. Faber-Castell S.A., São Carlos, SP, Brasil), para facilitar a análise de como seriam feitos os cortes, permitindo a obtenção do maior número de fragmentos de esmalte dentre as faces da fatia do dente (Figura 4). A fatia de dente foi fixada sob a placa de acrílico com godiva (Figura 5) para a realização de um corte simples, com apenas um disco diamantado, para a separação das áreas demarcadas. Os fragmentos obtidos através do corte simples foram fixados lado a lado com as demarcações paralelas entre si (Figura 6) para a realização de um corte duplo com os dois discos diamantados separados pelo espaçador de 4 mm (Figura 7), permitindo a obtenção dos espécimes 4x4 mm (Figura 8).

Dos dentes inferiores, geralmente foi possível obter espécimes das faces vestibular, lingual, mesial e distal, totalizando 4 espécimes por dente. Dos dentes superiores, em razão da menor dimensão, na maioria dos casos obteve-se 3 espécimes de esmalte por dente.

Com o intuito de realizar a planificação da dentina 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, RJ, Brasil) e uma lamparina (Jon, Ind. Bras., São Paulo, SP, Brasil) foram fixados por meio de cera para técnica de enceramento progressivo (Pasom Ind. e Com. de Materiais para Fundição Ltda, São Paulo, SP, Brasil) ao redor do espécime (Figura 9). Cuidado especial foi tomado para evitar o escoamento da cera entre o esmalte e o acrílico. O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (Arotec, Aropol 2v, Cotia, SP, Brasil), com sistema de polimento múltiplo, capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico onde foram fixados os espécimes (Figura 10). Nesse procedimento de planificação, uma lixa de silicone carbide de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, USA) sob refrigeração foi utilizada, até que os fragmentos apresentassem espessura de aproximadamente 4 mm. Para tanto, a politriz foi acionada em baixa velocidade, com 2 pesos padrão de 86g, durante 30 segundos a 2 minutos, variando em função do desgaste da lixa.

Posteriormente, os espécimes 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 (Figura 11). Nesta fase também foi necessário evitar o escoamento da cera entre a dentina e a placa de acrílico, fato que poderia acarretar alteração no paralelismo entre o esmalte e a dentina. O desgaste inicial do esmalte foi realizado com lixa de silicone carbide de granulação 600 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-600, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, USA) sob refrigeração, durante 30 segundos a 7 minutos, com 2 pesos, em velocidade alta para remoção das ondulações superficiais. Em seguida, o polimento do esmalte foi realizado com lixa de silicone carbide de granulação 1200 (Carbimet PaperDiscs, 30-5108-1200, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, USA), sob refrigeração, durante 2 minutos e 30 segundos, com 2 pesos, em velocidade alta, após o qual era possível observar uma superfície de

aspecto vítreo. Para finalizar o polimento, foi utilizado um feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, USA) umedecido com uma suspensão de diamante de 1 μ m (Extec I Water based diamond permanent polishing suspension 1micron 16.587, Corp., Enfield, CT, USA), durante 3 minutos, com 2 pesos, em velocidade alta, com o objetivo de planificar e remover ranhuras do fragmento de esmalte (Figura 12), permitindo a correta aferição da dureza superficial inicial.

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, Brasil), 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 espécimes foram armazenados em refrigerador a aproximadamente 4°C. Durante este período e até o final do experimento foram armazenados fixados nos discos de acrílico numerados, em recipientes plásticos com tampa (Figura 13), separados por compressas de gaze (Cremer S/A, Blumenau, SC, Brasil) embebidas em água deionizada (Figura 14).

FIGURA 1. Dente fixado em placa acrílica cristal com godiva termo-ativada.

FIGURA 2. Corte mésio-distal duplo acima da junção amelo-cementária.

FIGURA 3. Aparelho de corte de precisão montado com discos diamantados e espaçador metálico de 4mm.

FIGURA 4. Demarcação com lápis grafite para determinação das áreas planas.

FIGURA 5. Fatia de dente fixada para realização de corte simples para separação das áreas planas demarcadas.

FIGURA 6. Fragmentos fixados para realização de corte duplo para obtenção dos espécimes.

FIGURA 7. Corte duplo para obtenção dos espécimes.

FIGURA 8. Espécimes 4x4 mm.

FIGURA 9. Espécime fixado com cera com o esmalte voltado para a placa acrílica para a planificação da dentina.

FIGURA 10. Espécime após a planificação da dentina.

FIGURA 11. Espécime fixado com cera com a dentina voltada para a placa acrílica para o polimento do esmalte.

FIGURA 12. Espécime após o polimento final.

FIGURA 13. Espécimes armazenados em recipiente plástico com tampa.

FIGURA 14. Espécimes separados por compressas de gaze embebidas em água deionizada.

4.4. AVALIAÇÃO DA DUREZA SUPERFICIAL INICIAL (SH_i) E SELEÇÃO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE

A dureza superficial inicial do esmalte (SH_i) foi avaliada utilizando-se um microdurômetro (HMV-2000/ Shimadzu Corporation, Japan) (Figura 15) acoplado a um microcomputador e um software específico para a análise das imagens (Cams-Win-New Age Industries, USA).

Foi utilizado um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP (Figura 16), com carga estática de 25g, aplicada por 5 segundos. Em cada corpo de prova foram realizadas 5 indentações na área central da superfície polida com distância de 100 µm entre elas. Para medir as indentações realizadas, duas marcas pontilhadas que apareciam na tela do computador se sobrepunham aos vértices agudos do losango correspondente à indentação (Figura 17), determinando o comprimento da maior diagonal e, conseqüentemente, os resultados da dureza KNOOP (KHN) através do cálculo automático feito pelo software mediante a seguinte equação:

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

Sendo:

KHN= valor de dureza Knoop

C (constante)= 14,230

c = 25 gramas

d= comprimento da maior diagonal da indentação.

FIGURA 15. Microdurômetro Shimadzu acoplado ao microcomputador.

FIGURA 16. Penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP.

FIGURA 17. Determinação dos limites da indentação em esmalte hígido (imagem em maior aumento 40x).

A média da dureza obtida a partir das cinco indentações foi utilizada para excluir fragmentos com dureza fora do padrão. Foram desprezados os fragmentos com um valor médio de dureza superficial 10% acima ou 10% abaixo da média de todos os fragmentos. Foi feita a leitura da dureza superficial inicial de 244 espécimes (Apêndice 3), sendo que a média da dureza superficial de todos os espécimes foi de 343 KHN e os espécimes selecionados apresentaram dureza mínima de 310 KHN e máxima de 378 KHN. Alguns espécimes foram descartados por apresentarem trincas ou por não estarem totalmente paralelos após o polimento. Os espécimes 49, 98, 119, 139 e 162 foram excluídos por estarem além dos limites estabelecidos.

4.5. ESTERELIZAÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Os espécimes 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 (Sterileno Central de Esterelização, Sorocaba, SP, Brasil) (Figura 18).

FIGURA 18. Espécimes embalados antes (A) e após (B) a esterilização.

4.6. DESMINERALIZAÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Mediante um estudo piloto prévio (Apêndice 4) com 6 espécimes de esmalte humano realizou-se a desmineralização progressiva de 1 em 1 minuto seguida da avaliação da dureza superficial. Constatou-se que após 3 minutos de imersão em Coca Cola® à temperatura ambiente e sob agitação (Figura 19), obteve-se o máximo amolecimento do esmalte, traduzido na forma de diminuição dos valores da dureza. A partir de 4 minutos de imersão houve ligeiro aumento dos valores de dureza sugerindo ter havido desprendimento do esmalte amolecido (perda de estrutura).

FIGURA 19. Desmineralização dos espécimes (A) seguida da lavagem com água deionizada (B).

Em virtude da dificuldade de obtenção de uma ampla área plana após o polimento do esmalte de dentes humanos permanentes, que apresentam menor espessura de esmalte se comparado aos dentes bovinos e cujo desgaste excessivo promove a exposição de tecido dentinário e diminuição da dureza superficial, para a primeira etapa do estudo foram selecionados por conveniência 90 espécimes cuja área obtida após o polimento era insuficiente para a realização do teste de perfilometria, mas, no entanto, era suficiente para a realização das indentações para a avaliação da dureza superficial (Apêndice 5). Após a desmineralização os espécimes 1, 13, 14, 38, 42, 52, 56, 66, 70, 104, 128, 135, 140, 165, 208, 212, 215, e 239 foram excluídos por desviarem do padrão de normalidade ou pela dificuldade de visualização dos limites do losango necessária à determinação correta dos valores de dureza.

Primeiramente foi realizada uma seleção planejada dos espécimes conforme os valores de dureza iniciais de forma que, em todos os grupos e voluntários houvesse espécimes com dureza mais baixa e mais alta. Posteriormente foi feita uma distribuição aleatória, utilizando-se o programa Microsoft Excel. Os 144 espécimes de esmalte foram separadamente ordenados no sentido crescente de dureza e utilizando a função “ALEATÓRIA” da categoria matemática, sorteios aleatórios foram realizados para dividir os espécimes entre os 12 voluntários. Em seguida, os voluntários foram ordenados no sentido crescente de dureza e sorteios aleatórios dos 3 grupos experimentais foram realizados. No total, para cada voluntário foram destinados 2 espécimes, para cada período experimental de ambas as etapas (remineralização e ciclagem).

4.7. AVALIAÇÃO DA DUREZA SUPERFICIAL PÓS DESMINERALIZAÇÃO (SH_d)

A dureza superficial dos blocos de esmalte pós desmineralização (SH_d) foi avaliada da mesma forma que a inicial (item 4.4), sendo que as 5 indentações pós desmineralização foram realizadas 50 µm abaixo das indentações iniciais.

4.8. AVALIAÇÃO DA PERFILOMETRIA INICIAL

Nos espécimes destinados a segunda etapa do estudo foram realizadas marcações com uma lâmina de bisturi nº11 (Embramac, Itapira, SP, Brasil) para delimitação das áreas controle e teste de cada espécime. Para tal, confeccionou-se

com guia de resina composta sobre uma matriz bipartida com as seguintes dimensões: 2 mm de largura, 1,5 mm de altura e 2,5 cm de comprimento (Figura 20). O guia de resina foi posicionado sobre a região central de cada espécime e mantido sob pressão digital para realização da marcação, resultando em duas áreas controle nas extremidades (1,0 mm) e área teste na região central (2,0 mm) (Figura 21).

FIGURA 20. Dispositivo e guia de resina composta.

FIGURA 21. Marcação do espécime.

O perfil inicial dos espécimes de esmalte hígidos foi avaliado através de um perfilômetro Marh (MarSurf GD 25, Göttingen, Germany), acoplado a um microcomputador através do software de contorno (MarSurf XCR 20) (Figura 22).

FIGURA 22. Perfilômetro Marh com software XCR 20, com ênfase para o dispositivo de posicionamento acoplado à mesa do equipamento.

Os espécimes foram fixados a um dispositivo de padronização da posição e as medidas que determinavam a sua localização foram registradas (Figura 23) para permitir a sua recolocação após o experimento e avaliação do perfil final, determinando o desgaste sofrido.

FIGURA 23. Registro da posição inicial do espécime para avaliação do perfil (A) Escala milimetrada na base (B) Escalas milimetradas no chariot

Em cada espécime foram feitas 5 leituras à uma distância pré-determinada de 2.25, 2.0, 1.75, 1.5 e 1.25 μm do espécime em relação a posição da ponta avaliadora. Os gráficos oriundos do percurso da ponta sobre o espécime surgiam na tela do microcomputador e foram salvos individualmente (Figura 24).

FIGURA 24. Percurso da ponta sobre o espécime (A) Gráfico inicial (B).

Posteriormente, os dois terços localizados nas extremidades dos espécimes foram protegidos com esmalte cosmético de unhas (Colorama Maybelline - Ultra duração, Cosbra Cosméticos Ltda, São Paulo, SP, Brasil), para manutenção da integridade da área controle durante a etapa *in situ* (Figura 25).

FIGURA 25. Proteção da área controle com esmalte cosmético de unha (A) Espécime com áreas controle protegidas (B).

4.9. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Doze voluntários adultos jovens, com idade entre 18 e 30 anos foram selecionados para participar da pesquisa. Os critérios de exclusão considerados na anamnese para composição da amostra foram: fumar; apresentar lesões de cárie ou erosão ativa; apresentar desgaste dentário acentuado; ter recebido aplicação tópica de flúor gel pelo menos duas semanas antes do estudo; ter utilizado nos últimos 2 meses ou utilizar medicamentos que afetam o fluxo salivar (antidepressivos, narcóticos, diuréticos ou anti-histamínicos), ter sofrido irradiação ou quimioterapia, praticar atividades aquáticas (o cloro presente em piscinas proporcionam ao indivíduo contato com água de baixo pH) ou trabalhar em ambientes poluídos por compostos de baixo pH (fábricas de baterias); apresentar doenças sistêmicas tais como as auto-imunes, xerostomia, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastro-esofágicos e distúrbios de regurgitação e vômito; apresentar fluxo salivar estimulado menor que 1 ml/min e não estimulado menor que 0,1 ml/min.

Os voluntários foram submetidos a um exame clínico, realizado com espátula de madeira sob luz natural, para avaliação de lesões de cárie e/ou desgaste dentário.

4.10. PREPARO DO DISPOSITIVO INTRABUCAL PALATINO

Moldes do arco superior dos voluntários foram feitos com alginato (EzactKromm, Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e vazados em gesso pedra (Durant, Chaves S.A. Mineração e Indústria, Fortaleza, CE, Brasil). Para cada uma das etapas do estudo (remineralização e ciclagem erosiva) três dispositivos intrabucais palatinos, por voluntário, um para cada período, foram confeccionados em resina acrílica (Jet, Artigos Odontológicos Clássicos, São Paulo, SP, Brasil). Em cada dispositivo foram confeccionadas 2 cavidades de 6 x 6 x 3 mm, uma no lado direito e outra no esquerdo, para fixação de 1 espécime em cada uma delas. Os dispositivos foram polidos mecanicamente no torno (NEVONI, São Paulo, SP, Brasil /Ref: 344) com pedra-pomes (SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil/Ref: 05505) e quimicamente, pela imersão, por 5 segundos, em monômero de resina acrílica aquecido.

Os espécimes 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 cuidadosamente adaptados ao nível da superfície de resina do aparelho, evitando-se fendas laterais entre os fragmentos e as cavidades que poderiam resultar o acúmulo de biofilme dentário (Figura 26).

Figura 26. Dispositivo intrabucal finalizado sobre modelo de gesso. (A) Etapa Remineralização. (B) Etapa Ciclagem erosiva, espécimes protegidos nas áreas controles por esmalte cosmético de unhas recoberto por cera.

4.11. PROCEDIMENTOS INTRABUCAIS

Para a primeira etapa do estudo os voluntários, aleatoriamente divididos em 3 grupos, iniciaram o uso do dispositivo intrabucal em diferentes períodos experimentais num total de 1 dia com intervalo de uma semana entre cada fase.

Na primeira etapa da pesquisa cada voluntário recebeu um kit contendo: as instruções detalhadas para realização da etapa *in situ* (Apêndice 6), um estojo plástico para guardar o dispositivo intrabucal, uma bisnaga de dentifrício fluoretado (Colgate Palmolive Ltda, São Paulo, SP, Brasil), uma escova de dentes (Colgate Twister Fresh, Colgate Palmolive Ltda, São Paulo, SP, Brasil), um tubo de fita dental sabor menta (Colgate Palmolive Ltda, São Paulo, SP, Brasil), uma cartela da goma de mascar Trident Total® sabor hortelã (Kraft Foods/Cadbury, Bauru, São Paulo, Brasil), uma cartela da goma de mascar Trident Fresh® sabor hortelã (Kraft Foods/Cadbury, São Paulo, Brasil) e uma envelope de gaze (Cremer S.A. Ind. Brás., Blumenau, SC). As instruções escritas foram reforçadas verbalmente.

Aos voluntários foi permitido realizar a higiene bucal normalmente, após as refeições, sem o dispositivo, utilizando o dentifrício, a escova e a fita dental fornecidos. Os voluntários também foram orientados a não ingerirem bebidas, exceto

água, durante o experimento, a não ser nos horários das refeições quando da não utilização do dispositivo.

Durante a etapa correspondente à remineralização, os voluntários foram orientados a utilizar o dispositivo intrabucal inicialmente por duas horas, sendo que nas fases correspondentes ao uso da goma de mascar Trident Fresh® ou Trident Total® os voluntários foram orientados a mascar uma unidade do produto por trinta minutos, logo após a colocação do dispositivo intrabucal. Finalizado o período de uso de 2 horas, os dispositivos foram removidos e mantidos no estojo plástico, envoltos em gaze umedecida em água de abastecimento (Bauru – 0,7 ppm F). Os espécimes foram retirados para avaliação da dureza após 2h de remineralização.

Os espécimes foram reposicionados em seus locais de origem nos dispositivos intrabucais e devolvidos aos voluntários para continuação do uso. Durante o período de uso foram dadas pausas de três horas para alimentação (1 h para o almoço, 30 min para o lanche da tarde, 1 h para o jantar e 30 min para a ceia) não contabilizadas no período total de uso, que foi de 24 horas para cada fase. Durante esse período e nas fases correspondentes os voluntários foram requisitados a mascar por trinta minutos a goma de mascar após as principais refeições (café da manhã, almoço e jantar).

Finalizado o período de uso (24 horas), os dispositivos foram retirados e os espécimes removidos para avaliação da dureza superficial.

Para a etapa referente à ciclagem erosiva, os voluntários aleatoriamente divididos em 3 grupos, iniciaram o uso do dispositivo intrabucal em diferentes períodos experimentais, com duração de 7 dias cada. Decorrido um período, foi dado um intervalo de uma semana, para que o outro período experimental fosse realizado.

Cada voluntário recebeu uma maleta plástica contendo o material para execução desta etapa do estudo. Foram entregues as instruções (Apêndice 7), um estojo plástico para guardar o dispositivo intrabucal, um copo de vidro (Nadir Figueiredo do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) para imersões com volume padronizado da bebida (150 ml - volume exato na demarcação feita no copo), 4 cartelas da goma de mascar Trident Total®, 4 cartelas da goma de mascar Trident Fresh®, um pacote de gaze (Cremer S.A. Ind. Brás., Blumenau, SC) para acondicionamento do dispositivo intrabucal dentro do estojo.

O aparelho foi instalado um dia antes do início do experimento, à noite, após a última higiene, para permitir a formação da película adquirida. Os voluntários foram orientados a utilizar o dispositivo intrabucal continuamente (20 h/dia) exceto durante as refeições (4 refeições diárias de 1h). Para padronização o dispositivo deveria ficar 4 horas fora da boca, mesmo que as refeições tivessem duração menor 1 hora. Nos períodos de pausa de uso, os dispositivos foram mantidos no estojo plástico, envoltos em gaze umedecida em água de abastecimento (Bauru – 0,7 ppm F).

O protocolo de ciclagem erosiva estabelecido determinou a realização de 4 imersões diárias do dispositivo intrabucal em 150 ml de refrigerante tipo cola (Coca Cola®, embalagem de 600 ml, Lote: P1101113) à temperatura ambiente por 5 minutos cada (8h, 12h, 16h, 20h), durante 7 dias (Figura 27).

Durante os períodos experimentais referentes ao uso do chiclete, logo após os desafios erosivos, ou seja, após a remoção do aparelho da bebida tipo cola, lavagem do dispositivo em água corrente por 15 segundos e recolocação na cavidade bucal, os voluntários fizeram uso de uma unidade da goma de mascar por 30 min. Após este tempo o chiclete foi removido e o dispositivo utilizado por no mínimo 2 horas antes da sua remoção para uma nova imersão na bebida erosiva ou alimentação.

Figura 27. Ciclagem erosiva. (A) Material utilizado (B) Imersão do dispositivo na bebida ácida, com ênfase para o contato direto dos espécimes com o líquido.

4.12. AVALIAÇÃO DA DUREZA SUPERFICIAL PÓS REMINERALIZAÇÃO (SHf)

A dureza superficial dos blocos de esmalte pós remineralização (SHf) foi avaliada da mesma forma que a inicial (item 4.4), no entanto as (2x) 5 indentações

pós remineralização (2 e 24 horas) foram realizadas 50 e 100 µm abaixo das indentações pós desmineralização e a 100 e 150 µm das indentações iniciais.

As médias dos valores obtidos nas indentações iniciais (SH_i), pós desmineralização (SH_d) e após o experimento *in situ* (SH_f) foram utilizadas para cálculo do percentual de recuperação de dureza (%SHR) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%SHR = \frac{(SH_f - SH_d)}{(SH_i - SH_d)} \times 100$$

4.13. AVALIAÇÃO DO DESGASTE - PERFILOMETRIA FINAL

Terminada a etapa correspondente a ciclagem erosiva *in situ*, os espécimes foram removidos dos dispositivos intrabuciais e o esmalte cosmético de unhas foi retirado. Os espécimes foram reposicionados sobre a mesa do perfilômetro segundo a sua posição inicial e utilizando o mesmo software (XCR 20) com os mesmos parâmetros de medição, cinco leituras foram realizadas conforme descrito anteriormente (item 4.8).

Os cinco gráficos de cada um dos espécimes foram sobrepostos um a um, permitindo a mensuração do desgaste a partir da média das cinco leituras.

Para tanto, o gráfico inicial foi aberto, através da função “carregar perfil nominal” e em seguida o mesmo procedimento foi executado para o gráfico final correspondente. Selecionou-se a “zona de perfil” no gráfico inicial, através da marcação de dois pontos nas extremidades dos riscos delimitadores das áreas controle e utilizando a função “ajustar perfil”, marcou-se um ponto na área central do gráfico final. O primeiro procedimento de adaptação utilizado foi a “adaptação centrada”, posteriormente, aplicou-se um fator de zoom não proporcional de 50 vezes no eixo X e 500 vezes no eixo Z, possibilitando o refinamento da sobreposição através da “adaptação manual”. Esse recurso permite a inclinação e deslocamento dos gráficos, promovendo o ajuste correto nas áreas controle. Com os gráficos sobrepostos, definiu-se a “reta de regressão de perfil” e o “ponto médio” de ambos os gráficos e através do recurso “distância z”, os dois pontos médios foram selecionados para medição da distância entre os mesmos em altura, definindo o desgaste expresso em milímetros e convertido para micrometros.

4.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a etapa de remineralização (variável de resposta dureza superficial), na qual foram incluídos 12 voluntários, os dados foram analisados pela Análise de Variância de Medidas Repetidas a dois critérios (tratamento e tempo de remineralização) e Teste de Tukey, considerando $p < 0,05$, o software utilizado foi o Statistica versão 11.0. Para a etapa de ciclagem erosiva (variável de resposta desgaste), na qual foram considerados apenas 8 voluntários, os dados foram analisados pela Análise de Variância de Medidas Repetidas a um critério (tratamento) e Teste de Tukey, considerando $p < 0,05$, para tanto foi utilizado o software Sigma Plot versão 2012.

Resultados

“ Não há fatos eternos, como não há verdades absolutas. ”

Friedrich Nietzsche

5. Resultados

5.1 DUREZA

Na etapa referente à avaliação do potencial remineralizador dos tratamentos propostos, todos os 12 voluntários finalizaram o estudo e seguiram adequadamente o protocolo *in situ*.

Para o cálculo do percentual de recuperação de dureza (item 4.12 do material e métodos) foi obtida a média da dureza dos dois espécimes de cada grupo experimental para cada um dos voluntários. O cálculo foi realizado separadamente para os tempos de 2 e 24 horas de remineralização (Apêndices 8 e 9, respectivamente). Os dados necessários para a realização desse cálculo estão dispostos nos apêndices 3 (dureza inicial), 5 (dureza após desmineralização), 10 (dureza após 2 horas de remineralização *in situ*) e 11 (dureza após 24 horas de remineralização *in situ*).

Na tabela 2 observa-se que houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos e entre os tempos avaliados (Anova de Medidas Repetidas a dois critérios e teste de Tukey). Os espécimes apresentaram maior percentual de recuperação de dureza quando os voluntários utilizaram a goma de mascar com CPP-ACP (Trident Total®) em relação à goma convencional (Trident Fresh®) e ambas as gomas promoveram maior remineralização quando comparados ao controle, sem uso de goma de mascar. Para os três tratamentos avaliados o tempo de remineralização de 24 horas promoveu um maior percentual de recuperação de dureza do que o tempo de 2 horas.

Tabela 2. Médias e desvio-padrão (dP) dos percentuais de recuperação de dureza (%SHR) dos grupos em estudo, nos diferentes tempos de remineralização *in situ*.

Grupos	Tempo de remineralização	
	2 Horas %SHR ($\pm$ dP)	24 Horas %SHR ($\pm$ dP)
GI (Trident Fresh®)	30,30 ($\pm$ 3,43) ^a	71,07 ($\pm$ 8,04) ^b
GII (Controle)	15,70 ($\pm$ 3,90) ^c	40,93 ($\pm$ 5,14) ^d
GIII (Trident Total®)	50,04 ($\pm$ 6,54) ^e	95,86 ($\pm$ 3,54) ^f

*Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Anova e teste Tukey.

5.2 DESGASTE

O voluntário de número 1 foi removido da amostra da etapa de ciclagem erosiva do estudo, frente à perda do dispositivo intrabucal palatino na terceira fase. Os voluntários 6, 8 e 11 foram excluídos pela não realização adequada do protocolo da ciclagem erosiva *in situ*.

Os gráficos delineados após a etapa *in situ* confirmaram a presença de desgaste do esmalte em todos os espécimes estudados, independentemente do tipo de tratamento (Figuras 28, 29, 30).

Figura 28. Determinação do perfil de desgaste (espécime grupo Trident Fresh®).

Figura 29. Determinação do perfil de desgaste (espécime grupo Controle).

Figura 30. Determinação do perfil de desgaste (espécime grupo Trident Total®).

A avaliação do desgaste foi realizada individualmente para cada espécime (Apêndice 12) e foi obtida a média dos dois espécimes para os três grupos de cada um dos voluntários considerados (Apêndice 13).

A tabela 3 contém as médias de desgaste de cada grupo experimental dos 8 voluntários incluídos na etapa referente à ciclagem erosiva. Os valores indicam que o estímulo ao fluxo salivar promovido pelo uso de goma de mascar (Trident Fresh® e Trident Total®) proporcionou desgaste erosivo significativamente menor se comparado ao grupo controle (sem chiclete). A presença de CPP-ACP na goma de mascar não proporcionou aumento na proteção do esmalte contra a erosão em relação à goma convencional, pois não houve diferença estatística significativa entre os dois tipos de goma de mascar ($p > 0,05$).

Tabela 3. Médias do desgaste (μm) e desvio-padrão (dP) dos grupos em estudo.

Grupos	Desgaste ($\pm$ dP)
GI (Trident Fresh®)	$(3,8 \pm 1,5)^a$
GII (Controle)	$(6,8 \pm 3,5)^b$
GIII (Trident Total®)	$(5,2 \pm 2,8)^a$

*Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Anova e teste Tukey.

Discussão

“

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.

”

José de Alencar

6. Discussão

6.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A METODOLOGIA EMPREGADA

O nanocomplexo de caseína fosfopeptídea estabilizada pelo fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) foi postulado como agente remineralizador da estrutura dentária (REYNOLDS, 1998) por sua comprovada capacidade de aumentar os níveis salivares de cálcio e fosfato (REYNOLDS et al., 2003).

As propriedades anticariogênicas do CPP-ACP (REYNOLDS, 1997; REYNOLDS, 2009) têm sido descritas através da manutenção dos níveis de saturação de cálcio e fosfato na superfície dentária, de modo que o CPP-ACP promove um reservatório de pares iônicos neutros (CaHPO_4) que inibe a desmineralização do esmalte e promove a formação de cristais de hidroxiapatita dentro da lesão cariosa (REYNOLDS; WALSH, 2005).

Diante dos resultados promissores encontrados para o uso do CPP-ACP no tratamento de lesões cariosas de subsuperfície (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; ROBERTSON et al., 2011; ZHANG et al., 2011; COCHRANE et al., 2012), alguns estudos têm sido realizados no que se refere a aplicabilidade deste produto na forma de pasta ou mousse (LENNON et al., 2006; REES; LOYN; CHADWICK, 2007; PIEKARZ et al., 2008; POGGIO et al., 2009; RANJITKAR et al., 2009; RANJITKAR et al., 2010; POGGIO et al., 2013), adicionado à bebidas esportivas (MANTON et al., 2010) ou a refrigerante tipo cola (RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; FERRAZZANO et al., 2012) para lesões de erosão, sem consenso definido de que o CPP-ACP apresente efeito protetor da estrutura dentária. A avaliação da goma de mascar contendo esse composto sobre lesões erosivas, no entanto, ainda não foi descrita na literatura.

Rios et al. (2006b) sugeriram que o estímulo salivar através do uso de goma de mascar sem açúcar por 30 minutos após um desafio erosivo é capaz de reduzir o desgaste dentário, possivelmente em virtude do aumento da capacidade de remineralização salivar do tecido amolecido em repetidos desafios erosivos.

Diante de tais constatações, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de uma goma de mascar contendo CPP-ACP na erosão dentária, uma vez que quando adicionado à goma de mascar, a substância incorpora ao benefício do aumento do fluxo salivar estimulado pela mastigação, o seu potencial efeito inibidor da desmineralização e potencializador da remineralização do tecido dentário (REYNOLDS et al., 2003).

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 mimetizar as características e condições de estudos *in vivo* (WEST, DAVIES, AMAECHI, 2011). Os estudos clínicos randomizados relacionados ao desgaste erosivo dificilmente são realizados diante das dificuldades, particularmente no que se refere ao recrutamento de suficiente número 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.

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 regime.

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 humanos 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 microorganismos em biomateriais (CHANDLER, 1990; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998a). O procedimento tem sido apontado como eficaz na esterilização de dentes extraídos (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998a), 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.

Visando a eliminação de etapas a serem executadas pelo voluntário e tendo em vista que o objetivo da primeira etapa do estudo foi a avaliação do potencial de remineralização da saliva estimulada por uma goma de mascar contendo o CPP-ACP, optou-se pela desmineralização dos espécimes de esmalte *in vitro*, como uma alternativa viável de padronização da exposição dos espécimes à bebida ácida, no que se refere ao tempo de imersão e temperatura da bebida. O tempo de imersão dos espécimes em Coca Cola® durante 3 minutos foi determinado em estudo piloto para a obtenção de uma lesão de erosão inicial (Apêndice 4). Em recente estudo *in situ* desenvolvido por Wegehaupt et al. (2012), que utilizou o recurso de desmineralização erosiva através da imersão em refrigerante, adotou-se o protocolo de 2 minutos em Sprite Ligth® (Coca Cola Company, Atlanta, GA), como sendo representativo de um episódio de rápido consumo do refrigerante.

A avaliação do efeito remineralizador após os períodos de 2 e 24 horas de utilização do dispositivo intrabucal foi adotada mediante a tentativa de reprodução de distintas situações clínicas passíveis de ocorrência em pacientes com hábitos de risco para erosão. O primeiro período avaliado traduz uma condição mais realista, em que após um desafio erosivo o tecido dentário estaria exposto à ação remineralizadora da saliva durante 2 horas, até a ocorrência de uma nova agressão

ao tecido dentário. A segunda situação, seria um condição ideal, em que após a exposição à bebida ácida, o tecido dentário ficaria sob ação remineralizadora da saliva durante o período de 24 horas, na ausência de novos desafios ácidos e/ou abrasão mecânica.

A realização do estudo em duas etapas permitiu a constatação de que estudos menos complexos e mais curtos apresentam uma maior anuência de voluntários. A primeira etapa do estudo (remineralização), em que cada fase foi composta por apenas 24 horas de uso do dispositivo intrabucal, foi corretamente executada por todos os voluntários do estudo (n=12). Muito embora tenha sido bem aceita por parte dos voluntários, essa etapa da pesquisa foi complexa em termos operacionais, pela necessidade de remoção dos espécimes para avaliação da dureza após 2 horas de uso, seguida pelo reposicionamento no dispositivo intrabucal para continuação do uso por mais 22 horas. Uma maneira de eliminar esse inconveniente seria a avaliação da dureza nos dois tempos (2 e 24 horas) em espécimes distintos. Todavia, um recente trabalho realizou a mensuração do potencial remineralizador da saliva para os tempos de 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas de uso do dispositivo intrabucal palatino (GONÇALVES et al., 2013) e constatou-se não haver diferença entre os tempos avaliados. Esse resultado pode ser decorrente da mensuração da dureza em espécimes distintos para cada tempo avaliado, condição que pode exercer um fator de confusão na análise dos dados obtidos. Mesmo diante da exclusão de espécimes que se encontram fora do padrão de normalidade para a amostra, existe grande variabilidade natural na dureza dos dentes, de modo que os valores obtidos, quando se mensura em espécimes distintos podem traduzir a realidade com menor acurácia.

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 (SCHLUETER et al., 2011).

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. Em estágios mais avançados a estrutura amolecida é perdida, sendo possível quantificar, através da perfilometria, a perda de tecido dentário em relação a uma área de referencia não tratada no espécime (SCHLUETER et al., 2011).

A proteção das áreas de referência representa, portanto, um requisito essencial para correta avaliação do desgaste. Assim sendo, alguns cuidados são necessários como a cuidadosa aplicação do esmalte cosmético sobre as extremidades dos espécimes, incluindo-se o risco de referência, tempo de pausa para secagem do produto, seguida da aplicação de uma segunda camada do esmalte, sendo a proteção finalizada com a cobertura da área esmaltada com a cera utilizada para fixação dos espécimes no dispositivo intrabucal.

A demarcação dos espécimes através do risco também é importante para a adequada realização da perfilometria de contato através do software utilizado (MarSurf XCR 20) que apresenta a vantagem, em relação aos seus antecessores, os softwares MarSurf XR 20 (medição de rugosidade, perfil e ondulação) e MarSurf XT 20 (medição de topografia – perfil tridimensional), de compensação da curvatura natural do esmalte na mensuração do desgaste, através da sobreposição dos perfis iniciais e finais, permitindo uma interpretação mais adequada dos resultados.

6.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS

Para a prevenção do desgaste erosivo do esmalte dentário, diante da dificuldade da remoção dos fatores causais, diferentes tratamentos têm sido propostos e estudados (ATTIN; ZIRKEL; HELLWIG, 1998; PASSOS et al., 2010; VONGSAWAN; SURARIT; RIRATTANAPONG, 2010; ALTINOK et al., 2011; HOVE et al., 2011; MAGALHÃES et al., 2011; WEGEHAUPT et al., 2011). O aspecto comum a todos eles é a procura por um mecanismo de ação eficaz, relacionado ao aumento da remineralização da camada de esmalte amolecida (superficialmente desmineralizada) ou ao aumento da resistência do esmalte à ação dos ácidos (desmineralização).

No entanto, o desconhecimento sobre o mecanismo de ação de determinada terapia leva ao delineamento de estudos geradores de conhecimentos parciais, por avaliarem apenas a capacidade remineralizadora ou apenas a capacidade inibitória da desmineralização. Além disso, este desconhecimento resulta em outra limitação

dos estudos, que corresponde ao momento de aplicação da terapia proposta, ou seja, antes ou após o desafio erosivo. Todas estas variações conduzem a diferentes conclusões, 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.

O mecanismo de ação do CPP-ACP em relação à erosão não é totalmente conhecido. De forma geral, descreve-se que o ACP, por ser biologicamente ativo e capaz de liberar cálcio e fosfato em solução, aumenta substancialmente o nível de cálcio para manter a saturação ao redor da fase fluida do esmalte, enquanto que o CPP é capaz de estabilizar o fosfato de cálcio em solução, aumentando a sua concentração (REYNOLDS, 1998; TANTBIROJN et al., 2008). Dessa forma, os nanocomplexos de CPP-ACP transportados para a superfície dentária e localizados na película adquirida irão liberar cálcio e fosfato quando houver queda no pH, inibindo a desmineralização devido ao aumento localizado do grau de saturação desses minerais na estrutura dentária, e irão promover também remineralização por difusão para o menor gradiente de concentração (REYNOLDS, 2009).

O presente trabalho foi delineado em duas etapas para avaliar não somente o efeito da goma de mascar com CPP-ACP, como também para determinar indiretamente se o efeito anti-erosivo ocorreria pelo aumento na capacidade de remineralização da camada superficial amolecida da lesão de erosão. Os resultados encontrados mostraram que o aumento do fluxo salivar pela estimulação gustatória e mecânica do ato de mascar a goma, proporcionou aumento na remineralização da camada superficial erodida, possivelmente pelo aumento na produção salivar, principalmente da glândula parótida, que resulta em maior aporte dos íons cálcio e fosfato (DAWES, 1969; DAWES; MACPHERSON, 1992). Por outro lado, a goma de mascar contendo CPP-ACP promoveu maior remineralização e no tempo de 24 horas recuperou a dureza do esmalte quase que em sua totalidade. Estes resultados estão de acordo com estudos da literatura, que utilizaram outros veículos contendo CPP-ACP para promover aumento da dureza do esmalte de lesões erosivas (CAI et al., 2007; TANTBIROJN et al., 2008; PANICH; POOLTHONG, 2009; RIRATTANAPONG et al., 2012). Diante desses resultados supõe-se inicialmente que o mecanismo relacionado ao aumento do gradiente de concentração de fosfato

de cálcio teria ocorrido, o que repercutiria na prevenção da lesão de erosão na etapa seguinte do estudo.

Na segunda etapa, em que se avaliou o efeito da goma de mascar com CPP-ACP na prevenção da ocorrência de desgaste dentário erosivo, observou-se que o nanocomplexo não diminuiu o desgaste do esmalte quando comparado à goma de mascar sem este princípio ativo. A divergência entre os resultados da primeira e segunda etapa demonstraram que o principal mecanismo de ação relacionado ao CPP-ACP pode não ser somente proporcionado pela remineralização da camada superficial do esmalte, pois apesar deste fenômeno ter sido observado na primeira etapa, os resultados apresentados na segunda etapa evidenciaram que a remineralização não foi suficiente, para ao final da ciclagem erosiva, promover uma menor perda de esmalte.

A limitação dos resultados de estudos individuais, principalmente com delineamentos voltados apenas para a remineralização foi reforçada. Por outro lado, ficou clara a necessidade dos mesmos para auxiliar no entendimento do mecanismo de ação dos agentes supostamente anti-erosivos. Adicionalmente, para a avaliação do efeito de determinada terapia, os melhores modelos são aqueles que mimetizam de forma concomitante os fenômenos erosivos e remineralizadores que ocorrem na cavidade bucal de um paciente com a presença da doença.

A aparente contradição entre as duas etapas, que utilizaram os mesmos voluntários, mas com delineamentos diferentes, torna mais fácil entender o porquê de não haver consenso entre os trabalhos na literatura, com relação à eficácia do nanocomplexo de CPP-ACP na prevenção da erosão dentária. Resultados promissores foram obtidos de pesquisas que avaliaram a capacidade remineralizadora (PIEKARZ et al., 2008; PANICH, POOLTHONG, 2009; POGGIO et al., 2009; RANJITKAR et al., 2009a; VONGSAWAN, SURARIT, RIRATTANAPONG, 2010; POGGIO et al., 2013) ou a aplicação do CPP-ACP anteriormente ao desafio erosivo (REES, LOYN, CHADWICK, 2007). No entanto, estudos que encontraram limitação no efeito do CPP-ACP, usaram protocolos de ciclagem erosiva, aplicaram o agente após o desafio ácido ou utilizaram o fluoreto como grupo controle positivo (LENNON et al., 2006; WEGEHAUPT, ATTIN, 2010; WANG et al., 2011; WEGEHAUPT et al., 2012).

Os resultados do presente estudo confirmaram os resultados de trabalhos prévios (RIOS et al, 2006 a, RIOS et al 2006b) que relataram a redução do desgaste dentário mediante a utilização de goma de mascar sem açúcar por 30 min após os desafios erosivos. Conforme já estabelecido na literatura, a saliva exerce importante papel na redução do desgaste dentário diante de um ataque erosivo/abrasivo (AMAECHI; HIGHAM; 2001). A saliva protege a estrutura dentária da erosão por diferentes maneiras (BUZALAF, HANAS, KATO, 2012), seja pela capacidade tampão e lavagem salivar, pela inibição da desmineralização (em que atuam a película adquirida e proteínas salivares) ou pelo potencial remineralizador através da sua supersaturação em relação ao conteúdo mineral dos dentes, fornecendo cálcio, fosfato e fluoreto necessários à remineralização. Dentre essas funções, o potencial remineralizador é o maior beneficiado pelo uso de goma de mascar (EDGAR, 1998). Todavia, a utilização da goma de mascar com CPP-ACP não apresentou diferença em relação à goma convencional na segunda etapa do estudo, de modo que numericamente os valores de desgaste para o Trident Total® tenham sido, inclusive superiores aos do Trident Fresh®. Algumas hipóteses foram formuladas na tentativa de explicar estes resultados.

A primeira relaciona-se com a qualidade ou resistência mecânica da remineralização promovida pela saliva. Embora o efeito da caseína na remineralização do esmalte tenha sido associado a um subsequente aumento da resistência tecidual e menor solubilidade da estrutura dentária ao ataque ácido (IJIMA et al., 2004; ITTHAGARUN et al., 2005), o regime de 4 imersões diárias de 5 minutos em refrigerante tipo cola adotado pelo presente estudo como desafio erosivo não permitiu a ocorrência deste efeito.

Eisenburger et al. (2001) demonstraram *in vitro* que a remineralização da superfície erodida após 1, 2 e 4 h por saliva artificial é extremamente frágil sendo susceptível a remoção por forças mecânicas, no caso a ultrasonificação. Além disso, os autores especularam que o processo de remineralização envolveria o depósito de minerais nas zonas de porosidade do esmalte ao invés da promoção da regeneração de cristais de hidroxiapatita, neste período de remineralização. Além disso, encontraram que apenas o tempo de remineralização de 6 horas seria capaz de promover remineralização de uma camada com resistência às forças mecânicas. Deve-se considerar também que o potencial remineralizador de salivas artificiais é

maior que o da saliva humana, pela ausência de proteínas e pela própria viscosidade que aumentam a difusão de minerais para a lesão (AMAECHI; HIGHAM, 2001; HARA et al., 2008). Assim sendo, o tempo de remineralização entre os desafios erosivos do presente trabalho que ocorreram em média em um intervalo de duas horas, no grupo com CPP-ACP, apesar de ter resultado em maior recuperação de dureza da superfície erodida amolecida, pode não ter sido capaz de promover uma camada resistente às forças mecânicas, tendo havido apenas maior depósito de minerais e não regeneração da hidroxiapatita, resultando em susceptibilidade semelhante à do grupo sem CPP-ACP às forças mecânicas e desafios erosivos subsequentes.

Cabe ressaltar que apesar do estudo não contemplar a associação com a abrasão do esmalte, os próprios movimentos que ocorrem na cavidade bucal e o contato da língua (GREGG et al., 2004; LUSI et al., 2009) podem ter promovido esta ação mecânica.

Em futuros estudos esta hipótese deve ser investigada por meio de um maior intervalo entre os desafios erosivos, que permita uma melhor remineralização superficial da lesão de erosão, como talvez tenha ocorrido na etapa 1 deste trabalho, pois mediante 24 horas de uso, com quatro períodos de mastigação do chiclete, houve quase completo restabelecimento da condição inicial, prévia à desmineralização. Assim, seria importante comparar as frequências de 1, 2, 3 e 4 imersões diárias em bebida ácida (5 min), para esclarecer se um maior período de remineralização antes do desafio erosivo é capaz de aumentar o efeito da goma de mascar com CPP-ACP.

No que se refere à duração dos desafios erosivos, torna-se oportuno avaliar também a interferência de períodos de imersão menores que 5 minutos, sendo esta uma alternativa de simular o curto período de contato da bebida erosiva com as superfícies dentárias, como ocorre *in vivo*.

Por outro lado, fica o questionamento se maiores intervalos e menor duração dos desafios erosivos seriam capazes de simular o que ocorre *in vivo* e, caso o CPP-ACP tenha efeito positivo, com uma menor frequência de desafio erosivo ou um desafio menor que 5 min, se a terapia proposta teria o mesmo efeito na situação clínica em pacientes com erosão.

A diferença entre os resultados dos chicletes com e sem CPP-ACP poderia ser explicada pelas características distintas entre as duas formulações. Os dois tipos de goma de mascar selecionados para o estudo foram do mesmo sabor (hortelã) para que o estímulo gustatório não fosse responsável por maior ou menor estímulo ao fluxo salivar. Contudo, os chicletes apresentam diferentes características quanto ao tamanho e consistência. O trident Fresh® (convencional) é macio e ligeiramente maior em volume (1,9g), enquanto que o Trident Total® (1,37g) apresenta um revestimento rígido de cera de carnaúba. O menor volume do Trident Total® poderia ser considerado um fator que contribuiria para um menor estímulo mecânico e consequentemente menor potencial remineralizador, quando comparado ao Trident Fresh®, no entanto, essa hipótese não condiz com os resultados da primeira etapa do estudo.

Outra hipótese refere-se ao principal efeito do CPP-ACP estar relacionado à inibição da desmineralização erosiva. Neste caso, o componente CPP seria responsável pela formação de micelas (DEVOLD et al., 2006) resultando em camada semelhante a película adquirida (RYKKE et al., 1995). Esta camada não seria simplesmente uma barreira mecânica, pois este efeito inibiria também a remineralização, mas sim uma membrana permeável seletiva, a qual restringiria o contato de íons H^+ com a superfície dentária e também inibiria a perda de íons Ca^{+2} (WHITE et al., 2011). Em adição, o CPP poderia atuar como um tampão (REYNOLDS; STOREY, 1979), pois a proteína aderida a superfície do esmalte apresenta capacidade de aumentar o pH na superfície dentária pela presença de sequências de aminoácidos com grupos de aceitação H^+ (WHITE et al, 2011). Com relação ao componente ACP, a queda do pH promoveria um aumento localizado do grau de saturação desses minerais na estrutura dentária, inibindo a desmineralização.

Todavia, para que estes efeitos possam ser alcançados o CPP-ACP deve entrar em contato com o meio bucal antes do desafio erosivo, ou seja, deve ser aplicado antes da ação do ácido. Assim sendo, caso os voluntários mastigassem a goma antes do desafio erosivo, mesmo este sendo realizado *ex vivo*, no mínimo haveria o efeito do tampão e da membrana de ACP aderida, de modo que melhores resultados de diminuição do desgaste erosivo poderiam ser encontrados. Contudo, esta inversão de período de utilização da goma de mascar pode não ser viável em

casos de refluxo gastro-esofágico ou vômito, por não ser possível prever a sua ocorrência.

Finalmente a última hipótese seria de que o CPP-ACP adicionado à goma de mascar não apresenta ação adicional na prevenção da ocorrência de desgaste dentário 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).

Considerando os aspectos abordados, ainda não existe comprovação científica de que a goma de mascar contendo CPP-ACP possa ser utilizada para a prevenção de desenvolvimento ou evolução de lesões erosivas. No entanto, o seu efeito também não pode ser descartado, havendo a necessidade de realização de novos estudos, com delineamentos distintos para testar as hipóteses aqui formuladas.

Conclusões

“

Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer.

”

Mahatma Ganghi

7. Conclusões

Com base nos resultados do presente estudo *in situ*, conclui-se 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, apesar da goma de mascar convencional apresentar efeito na inibição do desgaste erosivo, o comportamento da goma de mascar com incorporação de CPP-ACP foi similar. Assim sendo, constata-se a necessidade de rejeição das hipóteses 1, 2 e 3, e a aceitação parcial da hipótese 4, uma vez que:

1. Houve diferença no potencial remineralizador de duas horas *in situ* dos grupos estudados. O fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (Trident Total®) proporcionou maior recuperação da dureza do esmalte que o fluxo salivar estimulado (Trident Fresh®) e este por sua vez promoveu maior recuperação de dureza que a condição salivar sem estímulo pela goma de mascar.
2. Houve diferença no potencial remineralizador de 24 horas *in situ* dos grupos estudados. O fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (Trident Total®) proporcionou maior recuperação da dureza do esmalte que o fluxo salivar estimulado (Trident Fresh®) e este por sua vez promoveu maior recuperação de dureza que a condição salivar sem estímulo pela goma de mascar.
3. Houve diferença no potencial remineralizador *in situ* entre os períodos de duas e 24 horas, independentemente do uso ou tipo de goma de mascar. O tempo de 24 horas promoveu maior recuperação da dureza do esmalte que o tempo de 2 horas.
4. Não houve diferença na capacidade protetora *in situ* do fluxo salivar estimulado (Trident Fresh®) e fluxo salivar estimulado na presença de CPP-ACP (Trident Total®) após ciclagem erosiva de 7 dias. No entanto, o fluxo salivar estimulado resultou em menor desgaste do esmalte que a condição salivar sem estímulo pela goma de mascar.

Referências

“ *Todo o conhecimento humano começou com intuições, passou daí aos conceitos e terminou com idéias.* ”

Immanuel Kant

Referências

- ABIR – Associação brasileira das indústrias de refrigerantes e de bebidas não alcoólicas [homepage na internet]. Rio de Janeiro: ABIR 2011 [acesso em 2013 Mar 30]. Disponível em: <http://www.abir.org.br>
- 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.
- 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* 1998a;32(6):441–446.
- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. The influence of xylitol and fluoride on dental erosion in vitro. *Arch Oral Biol*. 1998b;43(2):157-61.
- 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, Schuthof J, Smits MT. Influence of xylitol on demineralization of enamel. *Caries Res*. 1984;18(4):296-301.

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, 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.

Attin T, Knöfel S, Buchalla W, Tütüncü R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res*. 2001; 35(3):216-22.

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, 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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de saúde bucal 2010 – Principais resultados. / Secretaria de atenção à saúde / Secretaria de vigilância em saúde, Departamento de atenção básica – Brasília: Ministério da Saúde, 2011, 92p.

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.

Cai F, Manton DJ, Shen P, Walker GD, Cross KJ, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ. *Caries Res.* 2007;41(5):377-83.

Chandler NP: Preparation of dental enamel for use in intraoral cariogenicity experiments. *J Dent* 1990;18(1):54–8.

Cheaib Z, Lussi A. Impact of acquired enamel pellicle modification on initial dental erosion. *Caries Res.* 2011;45(2):107-12.

Chunmuang S, Jitpukdeebodindra S, Chuenarrom C, Benjakul P. Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. *J Oral Sci.* 2007;49(4):293-7.

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, Puppini-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.

Coulter TP: Proteins, in Coulter TP (ed): *Food. The Chemistry of its components.* Cambridge, Royal Society of Chemistry, 2002, p. 126-74.

Dawes C, Macpherson LM. Effects of nine different chewing-gums and lozenges on salivary flow rate and pH. *Caries Res.* 1992;26(3):176-82.

Dawes C. The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. *Arch Oral Biol.* 1969;14(3):277-94.

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-Johnsen B, Karlsen J, Vegarud GE: In vitro studies of adsorption of milk proteins onto tooth enamel. *Int Dairy J.* 2006;16:1013-17.

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.
- Eccles JD. Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent*. 1979;42(6):649-53.
- 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, 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, 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, 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. Definition of erosion and links to tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:9-16.
- Gonçalves PSP, Alencar CRB, Oliveira GC, Ionta FQ, Magalhães AC, Silva SMB, Honório HM, Rios D. Different Times for In Situ Salivary Remineralisation of Initial Erosion. *J Dent Res* 92(Spec Iss B):abstract number 1229, 2013.
- 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, Simring M, Schreiner S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. *J Am Dent Assoc.* 2004;135(8):1109-18.
- 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.
- Hara AT, González-Cabezas C, Creeth J, Zero DT. The effect of human saliva substitutes in an erosion–abrasion cycling model. *Eur J Oral Sci* 2008;116: 552–556.
- 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, 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.
- 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.
- Holbrook WP, Arnadottir IB, Kay EJ. Prevention. Part 3: prevention of tooth wear. *Br Dent J.* 2003;195(2):75-81.
- 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.
- 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. 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.
- Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P. Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. *J Dent.* 2005;33(7):569-75.
- 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.
- Kato MT, Magalhaes AC, Rios D, Hannas AR, Attin T, Buzalaf MA. Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(6):560-4.

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

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.

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

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.

Linnett V, Seow WK. Dental erosion in children: A literature review. *Pediatr Dent.* 2001;23(1):37-43.

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, Hellwig E, Ganss C, Jaeggi T. Buonocore Memorial Lecture. Dental erosion. Oper Dent. 2009;34(3):251-62.

Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. Am J Dent. 2006;19(6):319-25.

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, 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. 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, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MA. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. J Dent. 2009b;37(12):994-8.

- 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.* 2009c;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.
- Meurman JH, Drysdale T, Frank RM. Experimental erosion of dentin. *Scand J Dent Res.* 1991;99(6):457-62.
- Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2):199-206.
- 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, Lennon MA, Fear SC. Risk factors associated with tooth wear in teenagers: a case control study. *Community Dent Health.* 1997;14(3):143-7.
- 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.
- Monteiro CA, Mondini L, Costa RBL. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Rev Saude Publica.* 2000;34(3):251-8.
- 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.

Moynihan PJ, Holt RD. The national diet and nutrition survey of 1.5 to 4.5 year old children: summary of the findings of the dental survey. *Br Dent J*. 1996;181(9):328-32.

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.

Nunn JH, Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A. Dental erosion -- Changing prevalence? A review of British National childrens' surveys. *Int J Paediatr Dent*. 2003;13(2):98-105.

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

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

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.
- 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.
- 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.
- 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, 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; 9:175–180.
- Reynolds EC, Walsh LJ. Additional aids to the remineralisation of tooth structure. In: *Preservation and Restoration of Teeth - 2nd edition 2005*, p. 111-8.
- 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.
- Rirattanapong P, Vongsavan K, Suratit R, Tanaiutchawoot N, Charoenchokdilok V, Jeansuwannagorn S, Yoddee M. Effect of various forms of calcium in dental products on human enamel microhardness in vitro. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2012;43(4):1053-8.
- 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.
- Rochel ID, Souza JG, Silva TC, Pereira AF, Rios D, Buzalaf MA, Magalhães AC. Effect of experimental xylitol and fluoride-containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion in vitro. *J Oral Sci.* 2011;53(2):163-8.
- 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. *ColloidsSurf B Biointerfaces* 1995; 4: 33–44.
- Rytomaa I, Järvinen V, Kanerva R, Heinonen OP. Bulimia and tooth erosion. *Acta odonto Scand.* 1998;56(1):36-40.
- 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.
- Scheutzel P. Etiology of dental erosion-intrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2):178-90.
- 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.

- 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.
- Shaw L, Weatherill S, Smith A. Tooth wear in children: an investigation of etiological factors in children with cerebral palsy and gastroesophageal reflux. *ASDC J Dent Child.* 1998;65(6):484-6.
- Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):69-77.
- 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.
- Souza JG, Rochel ID, Pereira AF, Silva TC, Rios D, Machado MA, Buzalaf MA, Magalhães AC. Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion in vitro. *J Oral Sci.* 2010;52(4):553-9.
- 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.
- Swaisgood 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.
- ten Cate JM, Duijsters PP. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res.* 1983;17(3):193-9.

- ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2): 241-4.
- 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 school children 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, Meier W, Sutter E, Magalhães 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, 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.

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.

Referências

Apêndices

“

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1 - Título do Trabalho Experimental

“Efeito *in situ* de uma goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na erosão dentária”.

2 - Objetivo

A caseína é uma proteína derivada do leite que apresenta comprovado potencial de remineralização (reposição de minerais perdidos) da estrutura dentária e tem sido estudada na odontologia para promover a inibição da cárie e prevenir a erosão dentária. Atualmente a erosão tem ocorrido com frequência na população. A erosão é provocada pelo contato frequente de ácido com os dentes, esse ácido pode se originar do próprio organismo, ou da alimentação (comidas e bebidas ácidas) e não tem relação com bactérias. Assim sendo, várias medidas preventivas têm sido estudadas para aumentar a resistência do dente à erosão. Desta forma, iremos confeccionar aparelhos sem grampos metálicos para serem usados no palato (céu da boca) e neles serão fixados pedaços de dentes humanos, previamente esterilizados. Estes aparelhos não aparecerão (são estéticos) e não machucarão a boca. O único incômodo pode ser a adaptação para a pronúncia das palavras, no primeiro dia. O uso deste aparelho é importante pois permite, a nós pesquisadores, simular os eventos que ocorrem na boca de forma fiel, sem trazer nenhum efeito colateral aos dentes dos voluntários.

3 – Procedimentos da Fase Experimental

Nesta pesquisa será realizada em duas etapas. Você terá que usar aparelhos com 2 blocos de esmalte humano previamente esterilizados. Inicialmente, na primeira etapa, cada fase é de apenas um dia, e na etapa seguinte, cada uma das três fases experimentais terá duração de 7 dias com intervalo de 7 dias entre elas

Quatro vezes ao dia você irá tirar o aparelho da boca e imergi-lo, durante 5 minutos em um copo de 150 ml contendo uma bebida ácida (Coca Cola®), que será fornecida pelo pesquisador. Além disso, o aparelho será removido 4 vezes ao dia para realização das refeições (café da manhã, almoço, lanche e jantar), neste momento o aparelho será guardado, envolvido em gaze umedecida por água de abastecimento, em uma caixa plástica fornecida pelo pesquisador. O intervalo entre as refeições deverá ser de pelo menos 1h. Após as 4 refeições, o experimento será realizado. Não será exigido dos voluntários o seguimento exato destes períodos, será permitida uma variação, desde que sejam feitas as 4 imersões diárias e que, após a imersão no refrigerante, o aparelho permaneça na boca por no mínimo 2 horas antes da nova imersão. Após o aparelho ser recolocado na boca, você irá mascar o chiclete, fornecido pelo pesquisado, durante 30 minutos. No restante do tempo, o aparelho deve ser utilizado continuamente, inclusive durante a noite. Você também terá que realizar sua higiene bucal com escova de dente, fio dental e creme dental padronizado, também fornecidos pelo pesquisador durante este período.

4 – Benefício para participar do experimento

Não existe benefício específico para os voluntários, pois os benefícios serão para a população em geral, caso se chegue a conclusão de que a terapia testada é eficaz para a prevenção do desenvolvimento da erosão. A única vantagem para o voluntário será a realização de uma limpeza profissional de seus dentes, antes do início do experimento. Cabe ressaltar, que não haverá gasto nenhum, para nenhum dos voluntários envolvidos na pesquisa, todos refrigerantes, escova de dente, fio dental, creme dental e os chicletes serão fornecidos pelo pesquisador.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** e deixar de participar desta pesquisa, estando 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).

Qualquer dúvida ou maiores esclarecimentos você poderá recorrer à autora do projeto - Catarina Ribeiro Barros de Alencar - Telefone (14) 81141857, ou à sua orientadora - Profª Drª Daniela Rios (14) 8115-7718 / (14) 32243390. Caso queira apresentar reclamações em relação a sua participação na pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, da FOB-USP, no endereço: Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 (prédio da pós-graduação, FOB/USP) ou pelo telefone (14) 3235-8356.

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 explicadas 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.

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Bauru, _____ de _____ de ____.

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Apêndice 2

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

TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS

Eu, _____, cirurgião-dentista inscrito no CRO _____, com consultório situado na _____, cidade de _____, estado _____, CEP _____, telefone (____) _____, doei _____ (____) dentes terceiros molares inclusos que foram descartados pelos pacientes após as exodontias. Tais dentes serão utilizados na pesquisa intitulada “EFEITO *IN SITU* DE UMA GOMA DE MASCAR CONTENDO CASEÍNA FOSFOPEPTÍDEA - FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO (CPP-ACP) NA EROSÃO DENTÁRIA” de autoria de Catarina Ribeiro Barros de Alencar, aluna do mestrado em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Bauru, sob orientação da Prof^a Dr^a Daniela Rios.

Declarando que este(s) dente(s) foi (ram) extraído(s) por indicação terapêutica, cujos históricos fazem parte dos prontuários de quem se originam, arquivados sob a minha responsabilidade.

Bauru, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Cirurgião-Dentista

Apêndice 3

Valores das 5 indentações, médias (KHN) e desvio padrão (dP) da dureza superficial inicial de todos os espécimes.

Espécime	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4	Valor 5	Média	dP
1	355	379	399	385	373	378,2	16,16168
2	361	361	373	333	344	354,4	15,80506
3	349	373	361	333	338	350,8	16,43776
4	361	367	328	323	333	342,4	20,14448
5	344	373	349	349	373	357,6	14,20563
6	373	349	323	349	361	351	18,54724
7	373	355	367	406	373	374,8	18,92617
8	367	328	349	361	361	353,2	15,53061
9	385	355	373	344	344	360,2	18,24007
10	385	392	413	373	318	376,2	35,63285
11	373	344	361	355	361	358,8	10,54514
12	367	379	373	367	392	375,6	10,43072
13	361	373	355	373	328	358	18,49324
14	392	323	392	361	338	361,2	31,20417
15	379	379	373	355	373	371,8	9,859006
16	379	367	338	344	323	350,2	22,57654
17	392	379	361	373	349	370,8	16,52876
18	361	361	373	349	318	352,4	21,01904
19	367	328	338	328	406	353,4	33,46341
20	379	379	379	328	323	357,6	29,35643
21	349	344	323	367	373	351,2	19,85447
22	392	361	318	373	373	363,4	27,70018
23	355	361	367	355	309	349,4	23,12574
24	333	333	361	367	355	349,8	15,91226
25	323	267	338	313	373	322,8	38,60311
26	344	379	349	349	291	342,4	31,90298
27	361	349	367	379	344	360	14,03567
28	328	338	361	367	318	342,4	21,05469
29	313	349	333	367	367	345,8	23,17758
30	344	367	282	333	318	328,8	31,68122
31	349	355	333	355	367	351,8	12,3774
32	313	333	349	333	349	335,4	14,85934
33	373	392	373	361	361	372	12,68858
34	318	355	304	282	304	312,6	26,97777
35	313	318	323	338	385	335,4	29,2626
36	300	385	304	287	318	318,8	38,62253

Apêndices

37	367	399	367	361	367	372,2	15,20526
38	361	385	367	355	333	360,2	18,89974
39	333	373	361	392	385	368,8	23,2422
40	318	420	367	355	367	365,4	36,54176
41	379	318	367	349	361	354,8	23,2422
42	379	355	344	328	379	357	22,25983
43	309	338	367	338	313	333	23,35594
44	361	323	367	313	328	338,4	24,07904
45	379	328	361	385	361	362,8	22,20811
46	379	338	309	379	361	353,2	29,90318
47	309	309	333	323	338	322,4	13,37161
48	338	361	349	338	355	348,2	10,2323
49	287	282	313	299	309	298	13,45362
50	333	361	355	355	349	350,6	10,71448
51	313	304	344	282	373	323,2	35,64688
52	367	304	318	344	328	332,2	24,3146
53	355	355	304	328	338	336	21,29554
54	323	309	338	313	333	323,2	12,45793
55	333	355	323	385	413	361,8	37,21828
56	309	355	385	318	373	348	33,40659
57	379	355	344	385	373	367,2	17,15226
58	344	344	313	323	35	271,8	133,059
59	349	323	338	313	333	331,2	13,82751
60	361	373	367	349	392	368,4	15,89969
61	304	295	361	309	323	318,4	25,88049
62	355	385	379	355	379	370,6	14,44991
63	355	344	344	349	344	347,2	4,868265
64	338	344	295	399	413	357,8	48,1425
65	373	399	373	379	349	374,6	17,85497
66	344	361	333	392	361	358,2	22,33159
67	367	328	361	355	333	348,8	17,32628
68	328	338	318	318	328	326	8,3666
69	361	349	379	355	392	367,2	17,83816
70	361	385	349	367	333	359	19,49359
71	323	299	328	361	323	326,8	22,20811
72	379	349	333	355	349	353	16,67333
73	283	304	318	361	333	319,8	29,49068
74	333	344	333	267	338	323	31,63068
75	367	361	379	361	392	372	13,37909
76	373	373	367	399	361	374,6	14,51895
77	338	349	323	333	361	340,8	14,6697
78	318	344	291	309	304	313,2	19,79141
79	328	355	355	367	373	355,6	17,28583
80	373	385	344	344	379	365	19,63415
81	379	367	361	344	338	357,8	16,78392

82	338	361	367	344	355	353	11,93734
83	333	333	367	349	328	342	16,06238
84	349	392	392	355	392	376	22,01136
85	355	318	328	355	328	336,8	17,10848
86	328	355	367	373	385	361,6	21,67487
87	344	282	361	367	367	344,2	36,0236
88	373	355	349	355	338	354	12,68858
89	373	318	361	349	361	352,4	21,01904
90	379	344	373	344	349	357,8	16,87306
91	318	338	349	344	361	342	15,85875
92	318	328	287	313	355	320,2	24,65157
93	333	373	361	373	373	362,6	17,34359
94	349	385	367	361	379	368,2	14,3248
95	344	355	373	373	367	362,4	12,6412
96	379	361	392	373	367	374,4	11,90798
97	379	373	344	328	361	357	21,0119
98	287	282	349	282	344	308,8	34,52101
99	361	379	349	338	367	358,8	15,88081
100	367	349	367	344	361	357,6	10,57355
101	309	328	318	355	338	329,6	17,86897
102	313	328	349	328	313	326,2	14,78851
103	355	355	349	373	349	356,2	9,859006
104	367	355	328	361	373	356,8	17,44133
105	344	333	367	355	361	352	13,60147
106	333	313	333	318	344	328,2	12,55787
107	299	304	328	313	328	314,4	13,39029
108	304	323	344	304	328	320,6	17,02351
109	338	367	355	361	355	355,2	10,82589
110	361	318	355	344	344	344,4	16,47119
111	385	373	355	361	355	365,8	13,00769
112	355	333	318	333	333	334,4	13,2212
113	323	309	344	328	361	333	20,03746
114	367	328	349	323	344	342,2	17,56986
115	344	349	344	349	355	348,2	4,549725
116	344	355	338	323	355	343	13,36039
117	344	328	338	318	338	333,2	10,25671
118	349	304	304	313	344	322,8	22,0159
119	328	249	271	344	295	297,4	39,22117
120	367	361	349	379	344	360	14,03567
121	313	323	318	344	333	326,2	12,39758
122	318	355	333	328	313	329,4	16,34931
123	313	328	313	323	304	316,2	9,418068
124	328	328	318	323	313	322	6,519202
125	338	323	338	313	338	330	11,51086
126	328	313	309	338	323	322,2	11,64903

Apêndices

127	313	304	313	309	309	309,6	3,714835
128	333	344	333	361	323	338,8	14,46375
129	333	333	344	313	323	329,2	11,71324
130	349	333	328	328	344	336,4	9,607289
131	373	338	349	373	349	356,4	15,80506
132	355	344	355	355	333	348,4	9,838699
133	344	361	344	349	344	348,4	7,368853
134	349	338	309	344	338	335,6	15,56599
135	355	318	304	318	304	319,8	20,8854
136	338	318	333	323	323	327	8,215838
137	344	355	323	333	333	337,6	12,23928
138	338	361	338	367	361	353	13,91043
139	291	299	313	313	318	306,8	11,32254
140	318	373	333	367	355	349,2	23,19914
141	392	367	355	373	367	370,8	13,53514
142	338	361	349	349	328	345	12,51
143	338	318	361	291	349	331,4	27,57354
144	344	344	361	361	349	351,8	8,642916
145	318	304	333	328	333	323,2	12,35718
146	367	328	373	361	338	353,4	19,42421
147	333	361	333	338	333	339,6	12,1573
148	344	338	338	323	361	340,8	13,70036
149	355	344	355	361	355	354	6,164414
150	361	361	392	344	355	362,6	17,84096
151	361	367	338	338	361	353	13,91043
152	344	333	344	328	304	330,6	16,42559
153	349	333	328	344	333	337,4	8,734987
154	313	323	344	309	309	319,6	14,79189
155	338	328	309	344	333	330,4	13,3529
156	323	333	318	323	318	323	6,123724
157	349	318	333	318	344	332,4	14,36315
158	349	361	344	349	373	355,2	11,75585
159	338	349	373	349	344	350,6	13,3154
160	328	373	333	333	318	337	21,03568
161	323	313	318	328	367	329,8	21,53369
162	304	309	304	287	300	300,8	8,348653
163	344	333	333	309	333	330,4	12,87633
164	349	318	323	304	323	323,4	16,28803
165	355	349	373	361	333	354,2	14,8054
166	355	367	349	338	338	349,4	12,25969
167	349	373	349	361	333	353	14,96663
168	338	344	361	333	328	340,8	12,75539
169	373	361	367	361	373	367	6
170	361	355	361	361	355	358,6	3,286335
171	309	318	304	313	304	309,6	6,024948

172	318	323	333	323	328	325	5,700877
173	355	355	338	361	338	349,4	10,69112
174	318	349	323	373	355	343,6	22,93033
175	338	367	328	344	328	341	16,06238
176	323	323	323	367	328	332,8	19,24058
177	333	328	333	318	338	330	7,582875
178	323	323	313	309	373	328,2	25,79147
179	323	338	338	367	333	339,8	16,39207
180	367	385	385	349	373	371,8	14,93988
181	355	344	328	313	304	328,8	21,11161
182	349	338	361	344	361	350,6	10,26158
183	333	333	349	361	355	346,2	12,77498
184	333	344	355	328	328	337,6	11,71751
185	338	361	318	355	318	338	20,11219
186	349	318	367	328	344	341,2	19,01841
187	299	344	338	349	323	330,6	20,18167
188	328	338	338	344	355	340,6	9,889388
189	361	344	344	313	333	339	17,64936
190	355	349	338	379	349	354	15,26434
191	333	328	367	355	361	348,8	17,32628
192	344	338	349	349	355	347	6,363961
193	333	313	318	304	318	317,2	10,52141
194	328	361	344	349	355	347,4	12,58173
195	313	304	304	318	355	318,8	21,11161
196	323	355	349	333	355	343	14,3527
197	349	344	355	328	349	345	10,27132
198	367	355	333	338	349	348,4	13,55729
199	318	333	349	338	344	336,4	11,92896
200	318	344	313	344	309	325,6	17,09678
201	318	309	318	338	318	320,2	10,68644
202	349	361	373	333	361	355,4	15,12614
203	328	318	304	313	318	316,2	8,729261
304	318	344	338	344	333	335,4	10,76104
205	349	338	349	361	349	349,2	8,136338
206	355	344	328	349	373	349,8	16,39207
207	338	338	304	323	313	323,2	15,08973
208	349	323	328	367	338	341	17,62101
209	318	344	309	328	328	325,4	13,06905
210	323	333	313	318	323	322	7,416198
211	355	318	333	333	344	336,6	13,83112
212	338	318	313	323	323	323	9,354143
213	323	304	313	318	328	317,2	9,257429
214	333	349	361	333	338	342,8	12,09132
215	349	349	344	323	313	335,6	16,57709
216	328	349	344	355	313	337,8	17,10848

Apêndices

217	318	318	323	323	318	320	2,738613
218	338	373	338	338	367	350,8	17,65503
219	309	313	323	291	338	314,8	17,3839
220	323	313	367	349	338	338	21,2838
221	355	349	379	328	349	352	18,24829
222	309	323	367	338	361	339,6	24,613
223	333	349	399	367	349	359,4	25,19524
224	323	313	323	344	318	324,2	11,81948
225	309	304	318	309	328	313,6	9,502631
226	344	323	323	338	318	329,2	11,16692
227	344	338	344	318	344	337,6	11,26055
228	338	349	367	349	318	344,2	17,96385
229	344	338	323	344	318	333,4	12,1573
230	349	309	309	367	323	331,4	25,7449
231	344	338	355	333	392	352,4	23,6072
232	361	379	333	349	344	353,2	17,58408
233	333	338	373	333	373	350	21,09502
234	373	355	328	367	361	356,8	17,44133
235	373	367	355	385	379	371,8	11,54123
236	344	344	373	367	367	359	13,91043
237	349	309	328	349	323	331,6	17,34359
238	309	344	328	323	323	325,4	12,58173
239	344	333	367	344	373	352,2	16,99117
240	344	333	338	313	323	330,2	12,31666
241	318	379	373	392	318	356	35,36241
242	367	367	344	344	349	354,2	11,8617
243	333	344	361	367	379	356,8	18,33576
244	367	367	333	349	349	353	14,3527

Apêndice 4

Valores das 5 indentações, médias (KHN) e desvio padrão (dP) da dureza superficial inicial e após desmineralização dos espécimes do estudo piloto.

	Espécime	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4	Valor 5	Média	dP
Esmalte hígido	6	373	349	323	349	361	351	18,54724
	19	367	328	338	328	406	353,4	33,46341
	43	309	338	367	338	313	333	23,35594
	61	304	295	361	309	323	318,4	25,88049
	99	361	379	349	338	367	358,8	15,88081
	106	333	313	333	318	344	328,2	12,55787
1 minuto	6	233	219	232	253	233	234	12,16553
	19	249	278	253	256	233	253,8	16,17714
	43	253	271	239	271	249	256,6	14,09965
	61	239	256	236	216	239	237,2	14,23728
	99	267	239	243	263	256	253,6	12,23928
	106	233	271	271	246	243	252,8	17,2974
2 minutos	6	203	203	196	213	193	201,6	7,733046
	19	230	205	219	230	239	224,6	13,0499
	43	200	224	227	233	205	217,8	14,44645
	61	213	211	216	191	230	212,2	13,98928
	99	230	243	227	227	233	232	6,63325
	106	219	211	205	216	243	218,8	14,53272
3 minutos	6	200	213	191	191	187	196,4	10,43072
	19	213	196	200	213	187	201,8	11,25611
	43	198	198	189	211	208	200,8	8,81476
	61	198	198	216	163	211	197,2	20,70507
	99	178	227	200	193	221	203,8	20,19158
	106	180	187	205	213	211	199,2	14,83914
4 minutos	6	243	224	211	189	246	222,6	23,6072
	19	219	236	196	221	219	218,2	14,30734
	43	216	216	196	196	200	204,8	10,35374
	61	208	230	200	203	201	208,4	12,46194
	99	230	191	211	201	187	204	17,26268
	106	213	200	208	203	193	203,4	7,635444

Apêndice 5

Valores das 5 indentações, médias (KHN) e desvio padrão (dP) da dureza superficial após desmineralização dos espécimes para utilização na primeira etapa do estudo.

Espécime	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4	Valor 5	Média	dP
1	205	224	216	224	239	221,6	12,46194
9	198	208	213	216	246	216,2	18,00555
13	287	253	260	283	279	272,4	14,99333
14	304	271	221	275	279	270	30,26549
16	227	227	243	216	236	229,8	10,2323
20	256	282	233	224	219	242,8	26,10939
21	213	230	211	224	233	222,2	9,884331
24	227	213	219	260	219	227,6	18,78297
30	253	203	253	253	211	234,6	25,3535
31	233	205	213	227	213	218,2	11,45426
32	172	203	260	213	200	209,6	32,02031
33	198	208	208	216	198	205,6	7,668116
34	224	205	216	211	211	213,4	7,092249
38	184	170	191	208	172	185	15,49193
42	187	230	239	253	201	222	27,29469
45	200	213	203	200	172	197,6	15,27416
46	219	193	191	233	211	209,4	17,7426
52	193	200	182	187	203	193	8,746428
53	219	213	180	213	184	201,8	18,29481
56	170	180	163	200	203	183,2	17,79607
62	180	205	193	211	203	198,4	12,1573
63	208	189	208	216	230	210,2	14,87279
64	211	227	219	200	203	212	11,18034
66	187	172	246	267	227	219,8	39,77059
67	205	230	182	193	230	208	21,66795
69	230	256	239	246	213	236,8	16,36154
70	260	267	233	295	278	266,6	22,96301
71	213	227	219	221	239	223,8	9,859006
76	271	221	233	203	291	243,8	36,29325
78	224	211	236	205	236	222,4	14,18802
80	213	205	182	233	221	210,8	19,13635
81	224	256	205	224	239	229,6	19,06043
83	219	239	211	200	221	218	14,3527
86	230	253	219	246	205	230,6	19,55249
87	246	249	236	249	219	239,8	12,79453

90	208	224	189	196	224	208,2	15,94365
94	213	233	239	211	227	224,6	12,28007
95	180	203	196	203	208	198	10,93161
100	224	239	243	230	253	237,8	11,30044
101	211	198	185	208	178	196	14,30035
104	196	170	193	208	191	191,6	13,75863
110	205	246	236	205	227	223,8	18,43095
111	211	211	205	224	198	209,8	9,576012
117	213	205	213	213	224	213,6	6,76757
118	221	236	219	211	227	222,8	9,338094
127	200	211	184	221	211	205,4	14,0819
128	275	263	221	263	263	257	20,78461
131	230	213	213	203	200	211,8	11,73456
133	216	221	224	216	198	215	10,0995
135	172	189	191	191	193	187,2	8,613942
138	203	230	213	216	239	220,2	14,27235
140	178	180	227	180	176	188,2	21,75316
141	246	191	239	227	275	235,6	30,55814
143	193	154	203	221	200	194,2	24,73257
144	263	221	227	263	224	239,6	21,46625
152	208	219	249	203	216	219	17,93042
155	205	211	249	203	216	216,8	18,71363
158	227	246	221	278	230	240,4	22,96301
164	230	230	211	205	230	221,2	12,2352
165	239	282	263	282	211	255,4	30,46802
169	260	219	253	227	193	230,4	27,0518
172	239	233	271	246	233	244,4	15,80506
176	230	198	205	205	221	211,8	13,21741
179	233	253	230	233	246	239	9,974969
180	246	221	221	253	213	230,8	17,55563
181	227	219	230	221	287	236,8	28,41127
184	196	208	213	184	221	204,4	14,57052
186	211	205	216	198	198	205,6	7,95613
189	200	191	227	191	211	204	15,26434
191	256	211	216	260	233	235,2	22,39866
192	263	216	236	213	236	232,8	20,04245
194	189	227	230	208	193	209,4	18,8494
198	253	253	249	260	221	247,2	15,17234
203	230	221	267	233	211	232,4	21,16129
205	256	239	256	246	224	244,2	13,38656
206	239	236	211	239	208	226,6	15,69395
208	291	236	287	239	256	261,8	26,01346
209	219	224	239	221	221	224,8	8,136338
211	182	203	205	211	208	201,8	11,47606
212	230	170	174	184	172	186	25,17936

Apêndices

214	203	249	246	211	239	229,6	21,13764
215	213	205	205	189	230	208,4	14,89295
221	213	208	221	168	203	202,6	20,45238
222	172	200	216	224	227	207,8	22,58761
227	221	249	224	230	249	234,6	13,53883
229	203	249	211	221	227	222,2	17,58408
232	239	216	275	267	216	242,6	27,71823
238	271	243	205	224	246	237,8	24,8133
239	256	260	246	309	249	264	25,75849
243	208	224	230	221	200	216,6	12,28007

Apêndice 6

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

INSTRUÇÕES GERAIS PARA A PRIMEIRA ETAPA *IN SITU*

1. Durante todo o estudo você deverá utilizar o creme dental, escova de dente e fio dental que acaba de receber.
2. Nessa primeira etapa do estudo você será solicitado a utilizar três dispositivos, cada um deles corresponde a uma fase: I. Chiclete trident fresh®, II. Sem chiclete e III. Chiclete trident total®. O tempo total de uso de cada dispositivo será de 24 horas (frequência total de 4 ciclos de mastigação de chiclete/dia, para os grupos I e III), no entanto, é necessário realizar uma análise dos blocos de cada aparelho após 2 horas de permanência na boca. Por isso, para cada fase, será necessário que você retire o dispositivo da boca após 2 horas de uso, período que corresponde a uma frequência única de utilização de chiclete, para os grupos I e III. Após a análise, o dispositivo será devolvido para que você utilize-o segundo o seguinte protocolo:

Grupo I: (Trident Fresh®)

Até às 8hr - Café da manhã seguido de higiene bucal.

8 hr - Colocar o aparelho na boca e **mascar 1 chiclete durante 30 min**, descartado o chiclete em seguida. Permanecer com o aparelho na boca.

12 - 13 hr - Almoço seguido de higiene bucal.

13 hr - Recolocar o aparelho e **mascar 1 chiclete durante 30 min**. Permanecer com o aparelho na boca.

15 - 16 hr* - Intervalo para alimentação. Recolocar o aparelho na boca após a higiene bucal.

Não mascar chiclete nesse período!

*Esse intervalo pode ser dividido em dois períodos de meia hora cada, um das 15-15:30 e outro das 22-22:30, por exemplo, ou pode ser feito de maneira integral no período da tarde OU da noite. No entanto é imprescindível que o aparelho após recolocado na boca permaneça por pelo menos 2 horas antes de ser retirado novamente.

19 - 20 hr - Jantar e higiene bucal.

20 hr - 9 hr da manhã do dia seguinte - Recolocar o aparelho e **mascar 1 chiclete durante 30 min**. Permanecer com o aparelho na boca durante toda a noite. Remover o aparelho as 9 hr da manhã e acondiciona-lo no estojo envolto em gaze umedecida em água de torneira. Pode ser guardado na geladeira até a entrega.

Grupo II: (Controle – sem chiclete)

Até às 8hr - Café da manhã seguido de higiene bucal.

8 hr - Colocar o aparelho na boca e permanecer utilizando-o até as 12:00hr.

12 - 13 hr - Almoço seguido de higiene bucal.

13 hr - Recolocar o aparelho.

15 - 16 hr* - Intervalo para alimentação. Recolocar o aparelho na boca após a higiene bucal.

*Esse intervalo pode ser dividido em dois períodos de meia hora cada, um das 15-15:30 e outro das 22-22:30, por exemplo, ou pode ser feito de maneira integral no período da tarde OU da noite. No entanto é imprescindível que o aparelho após recolocado na boca permaneça por pelo menos 2 horas antes de ser retirado novamente.

19 - 20 hr - Jantar e higiene bucal.

20 hr - 9 hr da manhã do dia seguinte - Recolocar o aparelho e permanecer com utilizando-o durante toda a noite. Remover o aparelho as 9 hr da manhã e acondiciona-lo no estojo envolto em gaze umedecida em água de torneira. Pode ser guardado na geladeira até a entrega.

Grupo III: (Trident Total®)

Até às 8hr - Café da manhã seguido de higiene bucal.

8 hr - Colocar o aparelho na boca e **mascar 1 chiclete durante 30 min**, descartado o chiclete em seguida. Permanecer com o aparelho na boca.

12 - 13 hr - Almoço seguido de higiene bucal.

13 hr - Recolocar o aparelho e **mascar 1 chiclete durante 30 min**. Permanecer com o aparelho na boca.

15 - 16 hr* - Intervalo para alimentação. Recolocar o aparelho na boca após a higiene bucal.

Não mascar chiclete nesse período!

*Esse intervalo pode ser dividido em dois períodos de meia hora cada, um das 15-15:30 e outro das 22-22:30, por exemplo, ou pode ser feito de maneira integral no período da tarde OU da noite. No entanto é imprescindível que o aparelho após recolocado na boca permaneça por pelo menos 2 horas antes de ser retirado novamente.

19 - 20 hr - Jantar e higiene bucal.

20 hr - 9 hr da manhã do dia seguinte - Recolocar o aparelho e **mascar 1 chiclete durante 30 min**. Permanecer com o aparelho na boca durante toda a noite. Remover o aparelho as 9 hr da manhã e acondiciona-lo no estojo envolto em gaze umedecida em água de torneira. Pode ser guardado na geladeira até a entrega.

Caso haja algum incômodo no uso do aparelho, entrar em contato imediatamente:
Pesquisadora - Catarina: (14) 8114-1857 / (14) 3243-5482 / catarina.rba@gmail.com
Orientadora - Prof^a Dr^a Daniela (14) 81157718 / 3224-3390 / daniriosop@yahoo.com.br

Apêndice 7

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

INSTRUÇÕES GERAIS PARA A SEGUNDA ETAPA *IN SITU*

1. O aparelho deve ser instalado na noite anterior ao início do experimento (domingo), após a última higiene bucal. Serão 7 dias de experimento com utilização contínua (segunda manhã- domingo noite). No entanto, a retirada do aparelho deve ocorrer doze horas após última imersão no refrigerante.
2. Durante o experimento você deve utilizar a escova, o creme dental e o fio dental fornecidos na primeira etapa do estudo (a higiene deve ser feita com aparelho fora da boca). Caso haja necessidade de substituir/repôr algum item, favor entrar em contato*. O refrigerante fornecido para imersão do aparelho deve ser mantido à temperatura ambiente e cada garrafa (600 ml) é suficiente para 1 dia (4 imersões).
3. É permitido ingerir APENAS água com o aparelho na boca.
4. Você deve utilizar o aparelho continuamente (dia/noite), exceto APENAS EXATAS 4 horas de pausa para alimentação. **IMPORTANTE:** Para padronização o aparelho deve necessariamente ficar 4 horas fora da boca a cada dia.
5. Sempre que estiver fora da boca, o aparelho deve permanecer envolto em gaze umedecida em água da torneira, acondicionado no estojo apropriado, que pode ser mantido na geladeira.
6. Após as refeições você deve realizar a higiene bucal e colocar o aparelho na boca enquanto prepara o experimento: colocar 150 ml de coca-cola no copo fornecido (até cobrir a marcação), retirar o aparelho da boca e imergi-lo no refrigerante durante 5 minutos (**CERTIFICAR-SE DE QUE OS BLOCOS ESTÃO EM CONTATO COM O REFRIGERANTE**). Em seguida, lavar o aparelho em água corrente (não escovar o aparelho) e recolocá-lo na boca.
7. Nas fases correspondentes ao uso de chiclete, você deverá mascar uma unidade do produto por 30 minutos, após ter recolocado o aparelho. É imprescindível que você masque o chiclete de ambos os lados da arcada e que tenha o cuidado de evitar que o chiclete grude sobre os blocos do aparelho.
8. Após ser instalado, o aparelho deve permanecer na boca **NO MÍNIMO 2 horas** até que possa ser retirado para alimentação ou para uma nova imersão no refrigerante.

Caso haja algum desconforto no uso do aparelho favor entrar em contato imediatamente. **ANTES DE CADA EXPERIMENTO FAVOR OBSERVAR A PERMANÊNCIA DA CERA E ESMALTE DE UNHA NAS LATERAIS DOS BLOCOS**, caso tenham saído, **NÃO FAZER** o experimento e entrar em contato.

Contato:

Pesquisadora - Catarina: (14) 8114-1857 / (14) 3243-5482 / catarina.rba@gmail.com

Orientadora - Prof^a Dr^a Daniela (14) 81157718 / 3224-3390 / daniriosop@yahoo.com.br

Apêndice 8

Percentual de recuperação de dureza (SHR) e desvio padrão (dP) após 2 horas de remineralização *in situ*.

Grupo	Trident Fresh®		Controle		Trident Total®	
Voluntário	SHR (%)	dP	SHR (%)	dP	SHR (%)	dP
1	26,2904	3,904624	9,137081	2,670827	43,41361	1,064985
2	33,22281	4,366913	15,25625	0,412183	46,98275	2,657158
3	26,32942	4,705087	12,654	2,077036	61,26896	11,83094
4	28,15124	11,23194	16,39535	5,097747	52,82042	2,854286
5	24,64386	4,815286	19,62286	7,361939	41,5636	3,75204
6	28,02802	0,379402	22,13913	4,994107	50,95396	7,566588
7	31,31572	1,211628	18,76332	1,889297	44,68841	5,291052
8	33,12661	0,022973	20,05797	2,746444	62,83388	3,620261
9	34,93386	9,499002	13,06652	6,041791	47,85729	13,96751
10	33,60919	1,933178	16,52724	3,169998	50,72293	7,353069
11	31,58157	1,912812	11,84669	2,414806	46,42986	0,428644
12	32,4148	2,441178	12,99893	2,950375	51,05168	7,995768

Apêndice 9

Percentual de recuperação de dureza (SHR) e desvio padrão (dP) após 24 horas de remineralização *in situ*.

Grupo	Trident Fresh®		Controle		Trident Total®	
Voluntário	SHR (%)	dP	SHR (%)	dP	SHR (%)	dP
1	66,50198	10,48083	32,31755	0,739185	93,60793	1,772272
2	68,28634	2,656707	43,03582	1,853283	99,80421	0,772233
3	64,40601	10,44287	32,95542	0,803433	97,91685	2,300258
4	64,34083	15,5998	38,86388	1,400256	96,24806	0,744066
5	60,3417	0,650105	36,87914	0,552674	90,46094	8,520844
6	65,15464	4,442971	43,70124	5,385802	96,5313	2,16558
7	72,53867	4,829386	47,76761	7,89452	93,28035	7,63299
8	73,21628	9,262547	49,15217	11,0985	99,70879	2,625862
9	81,92355	12,80618	40,37892	14,17651	89,81478	13,1323
10	75,55351	1,072107	43,04391	3,467058	100,0971	0,137302
11	72,28836	6,798756	40,79948	2,749314	98,37248	0,309812
12	88,32039	0,630929	42,27059	4,221258	94,5449	7,508525

Apêndice 10

Valores das 5 indentações, médias (KHN) e desvio padrão (dP) da dureza superficial após remineralização de 2 horas.

Grupo	Espécime	Voluntário	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4	Valor 5	Média	dP
1	90	1	233	243	249	249	243	243,4	6,542171
1	198	1	267	263	295	267	291	276,6	15,12614
1	227	2	275	267	260	267	291	272	11,87434
1	133	2	260	243	257	260	256	255,2	7,049823
1	45	3	233	236	233	230	246	235,6	6,188699
1	232	3	271	269	271	275	291	275,4	8,988882
1	62	4	233	227	236	243	227	233,2	6,723095
1	30	4	275	263	267	267	271	268,6	4,560702
1	20	5	263	267	263	287	295	275	14,96663
1	186	5	227	236	230	243	236	234,4	6,188699
1	189	6	243	236	233	253	246	242,2	7,981228
1	206	6	271	260	260	267	246	260,8	9,523655
1	46	7	243	260	260	243	260	253,2	9,311283
1	110	7	260	263	267	263	260	262,6	2,880972
1	205	8	287	267	287	287	267	279	10,95445
1	117	8	243	260	267	243	253	253,2	10,54514
1	127	9	243	260	243	249	249	248,8	6,942622
1	21	9	263	249	263	249	269	258,6	9,099451
1	24	10	267	269	269	263	267	267	2,44949
1	32	10	267	249	260	243	249	253,6	9,68504
1	31	11	263	269	263	267	249	262,2	7,823043
1	86	11	267	275	267	271	271	270,2	3,34664
1	101	12	227	249	227	233	249	237	11,22497
1	78	12	263	249	249	243	263	253,4	9,099451
2	141	1	243	246	243	249	246	245,4	2,50998
2	111	1	227	224	227	233	224	227	3,674235
2	155	2	243	227	227	233	239	233,8	7,155418
2	214	2	239	246	249	256	246	247,2	6,140033
2	100	3	253	243	249	233	278	251,2	16,76902
2	243	3	236	224	243	243	236	236,4	7,765307
2	16	4	239	236	256	256	239	245,2	9,934787
2	63	4	236	236	224	253	239	237,6	10,35857
2	64	5	230	236	256	256	263	248,2	14,3248
2	69	5	256	263	253	260	246	255,6	6,580274
2	87	6	278	260	267	275	253	266,6	10,35857

Apêndices

2	221	6	200	227	243	246	236	230,4	18,50135
2	172	7	260	260	267	249	267	260,6	7,368853
2	131	7	236	243	227	236	243	237	6,595453
2	194	8	239	236	243	227	227	234,4	7,197222
2	118	8	256	243	239	243	243	244,8	6,496153
2	180	9	246	236	239	249	246	243,2	5,449771
2	34	9	239	236	221	230	227	230,6	7,162402
2	184	10	236	227	224	233	227	229,4	4,929503
2	158	10	256	256	249	267	256	256,8	6,457554
2	209	11	230	233	230	243	239	235	5,787918
2	138	11	236	233	243	243	236	238,2	4,549725
2	95	12	233	200	233	224	224	222,8	13,51666
2	179	12	249	253	249	246	253	250	3
3	9	1	267	267	287	291	287	279,8	11,7983
3	76	1	299	287	304	299	309	299,6	8,173127
3	192	2	299	271	287	287	299	288,6	11,52389
3	211	2	263	249	263	275	263	262,6	9,208692
3	83	3	299	278	287	267	287	283,6	11,90798
3	238	3	291	304	304	291	304	298,8	7,120393
3	152	4	282	275	282	275	287	280,2	5,167204
3	144	4	304	275	291	309	304	296,6	13,79493
3	80	5	278	271	271	267	267	270,8	4,494441
3	169	5	291	282	295	299	287	290,8	6,648308
3	181	6	275	304	278	299	287	288,6	12,70039
3	53	6	249	267	275	249	275	263	13,19091
3	176	7	249	267	282	267	287	270,4	14,92649
3	94	7	282	287	271	295	282	283,4	8,734987
3	203	8	275	304	287	299	271	287,2	14,42914
3	164	8	278	267	275	299	295	282,8	13,64551
3	33	9	271	291	263	263	256	268,8	13,49815
3	229	9	279	295	304	271	283	286,4	13,10725
3	71	10	287	271	287	271	291	281,4	9,633276
3	222	10	271	267	263	267	271	267,8	3,34664
3	67	11	282	271	263	271	282	273,8	8,167007
3	191	11	275	295	295	282	291	287,6	8,820431
3	81	12	299	271	299	271	299	287,8	15,33623
3	143	12	282	271	269	269	269	272	5,656854

G1 = Trident Fresh®**G2 = Controle Negativo****G3 = Trident Total®**

Apêndice 11

Valores das 5 indentações, médias (KHN) e desvio padrão (dP) da dureza superficial após remineralização de 24 horas.

Grupo	Espécime	Voluntário	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4	Valor 5	Média	dP
1	90	1	260	295	328	291	309	296,6	25,06591
1	198	1	328	313	328	323	318	322	6,519202
1	227	2	304	299	304	299	309	303	4,1833
1	133	2	304	313	309	304	313	308,6	4,505552
1	45	3	287	295	291	291	295	291,8	3,34664
1	232	3	313	299	349	300	349	322	25,25866
1	62	4	291	287	287	291	295	290,2	3,34664
1	30	4	299	313	304	299	313	305,6	7,056912
1	20	5	304	313	309	309	328	312,6	9,181503
1	186	5	290	291	295	267	291	286,8	11,23388
1	189	6	304	299	287	304	287	296,2	8,642916
1	206	6	287	323	304	287	314	303	16,07794
1	46	7	309	304	299	323	309	308,8	8,955445
1	110	7	309	313	309	323	323	315,4	7,127412
1	205	8	323	313	313	309	313	314,2	5,215362
1	117	8	323	318	291	318	295	309	14,81553
1	127	9	304	299	295	304	299	300,2	3,834058
1	21	9	304	323	323	318	313	316,2	7,981228
1	24	10	323	313	323	323	313	319	5,477226
1	32	10	313	313	304	299	299	305,6	7,056912
1	31	11	338	323	304	318	323	321,2	12,19426
1	86	11	313	323	313	318	328	319	6,519202
1	101	12	318	323	304	309	313	313,4	7,436397
1	78	12	304	299	304	304	304	303	2,236068
2	141	1	267	243	304	299	287	280	25,11971
2	111	1	243	267	253	267	267	259,4	10,99091
2	155	2	249	249	287	249	287	264,2	20,81346
2	214	2	267	291	287	267	287	279,8	11,7983
2	100	3	267	287	271	287	271	276,6	9,633276
2	243	3	269	249	267	246	287	263,6	16,66733
2	16	4	249	291	263	287	287	275,4	18,46077
2	63	4	269	267	249	272	267	264,8	9,066422
2	64	5	275	249	275	260	267	265,2	11,00909
2	69	5	287	267	299	287	287	285,4	11,52389
2	87	6	299	287	275	299	287	289,4	10,03992

Apêndices

2	221	6	249	263	249	263	287	262,2	15,53061
2	172	7	299	282	282	299	275	287,4	10,96814
2	131	7	269	271	278	275	271	272,8	3,63318
2	194	8	267	263	272	267	263	266,4	3,714835
2	118	8	287	267	287	271	287	279,8	9,95992
2	180	9	278	278	267	278	267	273,6	6,024948
2	34	9	263	271	249	271	263	263,4	8,988882
2	184	10	271	267	249	267	271	265	9,165151
2	158	10	299	299	287	275	275	287	12
2	209	11	271	263	267	267	271	267,8	3,34664
2	138	11	269	271	269	275	275	271,8	3,03315
2	95	12	282	271	271	269	269	272,4	5,458938
2	179	12	295	287	271	269	271	278,6	11,69615
3	9	1	361	361	349	344	349	352,8	7,758866
3	76	1	355	379	367	355	367	364,6	10,03992
3	192	2	349	361	355	349	323	347,4	14,51895
3	211	2	344	323	328	355	328	335,6	13,42758
3	83	3	323	333	349	349	333	337,4	11,34901
3	238	3	323	313	333	323	333	325	8,3666
3	152	4	323	323	323	333	333	327	5,477226
3	144	4	333	355	349	349	349	347	8,246211
3	80	5	349	355	323	355	323	341	16,61325
3	169	5	379	361	367	349	355	362,2	11,54123
3	181	6	309	323	333	333	323	324,2	9,859006
3	53	6	323	349	323	349	323	333,4	14,24079
3	176	7	323	323	349	323	338	331,2	11,88276
3	94	7	355	344	367	344	344	350,8	10,2323
3	203	8	309	313	328	309	313	314,4	7,861298
3	164	8	328	323	328	323	323	325	2,738613
3	33	9	323	349	344	344	338	339,6	10,06479
3	229	9	323	344	323	323	349	332,4	12,99231
3	71	10	323	333	323	333	323	327	5,477226
3	222	10	344	333	344	344	333	339,6	6,024948
3	67	11	323	349	355	349	355	346,2	13,31165
3	191	11	344	355	344	344	349	347,2	4,868265
3	81	12	323	349	355	349	344	344	12,36932
3	143	12	344	323	333	323	333	331,2	8,729261

G1 = Trident Fresh®**G2 = Controle Negativo****G3 = Trident Total®**

Apêndice 12

Valores das 5 leituras (μm), médias e desvio padrão (dP) para obtenção do desgaste dos espécimes.

Grupo	Espécime	Voluntário	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4	Valor 5	Média	dP
1	166	2	0,00645	0,00501	0,0065	0,00661	0,00676	0,006266	0,000712
1	74	2	0,00323	0,00331	0,00394	0,00188	0,00205	0,002882	0,000883
1	41	3	0,00145	0,00133	0,003	0,00466	0,00673	0,003434	0,002287
1	235	3	0,00235	0,00231	0,00226	0,00345	0,00136	0,002346	0,000742
1	15	4	0,00225	0,00311	0,00286	0,00496	0,00269	0,003174	0,001046
1	220	4	0,00258	0,00324	0,00361	0,00249	0,00218	0,00282	0,000587
1	73	5	0,00316	0,00196	0,00163	0,00163	0,00171	0,002018	0,000653
1	177	5	0,00948	0,00912	0,00798	0,01009	0,00978	0,00929	0,000816
1	12	7	0,00312	0,00399	0,005	0,00545	0,00589	0,00469	0,001126
1	29	7	0,00042	0,00132	0,00211	0,00189	0,00258	0,001664	0,00083
1	11	9	0,00427	0,00545	0,00517	0,00464	0,00469	0,004844	0,000466
1	137	9	0,00951	0,0071	0,00642	0,00714	0,00706	0,007446	0,001191
1	174	10	0,00394	0,00356	0,00289	0,0045	0,00437	0,003852	0,000653
1	204	10	0,00166	0,00195	0,00135	0,00171	0,00281	0,001896	0,000554
1	109	12	0,00091	0,00085	0,00081	0,00093	0,00108	0,000916	0,000103
1	193	12	0,00287	0,00202	0,00405	0,00389	0,00299	0,003164	0,000827
2	4	2	0,01643	0,01627	0,01456	0,01751	0,0141	0,015774	0,001411
2	241	2	0,01605	0,01322	0,01351	0,01322	0,01187	0,013574	0,001524
2	89	3	0,00675	0,00846	0,00363	0,0049	0,00575	0,005898	0,001834
2	50	3	0,00874	0,00847	0,00959	0,0085	0,00927	0,008914	0,000496
2	231	4	0,0055	0,00755	0,01047	0,01317	0,01119	0,009576	0,003043
2	103	4	0,0026	0,0026	0,00253	0,00301	0,0036	0,002868	0,000451
2	217	5	0,00297	0,00314	0,0024	0,00271	0,00218	0,00268	0,000395
2	210	5	0,00578	0,00639	0,0065	0,0058	0,00758	0,00641	0,000733
2	114	7	0,01491	0,0059	0,00558	0,00601	0,00678	0,007836	0,003979
2	234	7	0,00215	0,00731	0,00243	0,0015	0,00102	0,002882	0,002536
2	185	9	0,00913	0,00855	0,00849	0,0079	0,00624	0,008062	0,001108
2	132	9	0,0037	0,00354	0,00437	0,00444	0,00491	0,004192	0,000565
2	44	10	0,00319	0,00082	0,00059	0,00071	0,00586	0,002234	0,002296
2	122	10	0,00213	0,00248	0,00258	0,0046	0,00532	0,003422	0,001437
2	113	12	0,00715	0,00557	0,00596	0,00477	0,00437	0,005564	0,001087
2	201	12	0,00647	0,00958	0,00979	0,01008	0,01034	0,009252	0,001582
3	167	2	0,00547	0,00642	0,00713	0,00612	0,00736	0,0065	0,000766
3	224	2	0,0093	0,00775	0,00789	0,00681	0,00441	0,007232	0,001811
3	147	3	0,0054	0,00232	0,00179	0,00159	0,00169	0,002558	0,001614

3	146	3	0,00094	0,00142	0,0007	0,00161	0,00092	0,001118	0,00038
3	149	4	0,002	0,00093	0,00099	0,00097	0,00114	0,001206	0,000451
3	187	4	0,00249	0,0026	0,00228	0,00217	0,00161	0,00223	0,000386
3	160	5	0,00559	0,00359	0,00476	0,0059	0,00906	0,00578	0,00204
3	237	5	0,00355	0,00145	0,00152	0,0017	0,0019	0,002024	0,000871
3	150	7	0,01063	0,01029	0,01057	0,01029	0,01096	0,010548	0,000278
3	188	7	0,00475	0,00577	0,00452	0,00466	0,0035	0,00464	0,000807
3	115	9	0,00988	0,00808	0,00737	0,00866	0,00697	0,008192	0,001146
3	173	9	0,00952	0,01014	0,00815	0,00747	0,00739	0,008534	0,001239
3	68	10	0,00316	0,00431	0,0056	0,00578	0,00452	0,004674	0,001064
3	112	10	0,00264	0,00332	0,00182	0,00174	0,00153	0,00221	0,00075
3	26	12	0,00167	0,01322	0,00961	0,00781	0,00869	0,0082	0,00419
3	36	12	0,00823	0,00726	0,00678	0,00751	0,00847	0,00765	0,000696

Apêndice 13

Médias do desgaste (μm) e desvio padrão (dP) por voluntários.

Grupo	Trident Fresh®		Controle		Trident Total®	
Voluntário	Desgaste	dP	Desgaste	dP	Desgaste	dP
2	0,004574	0,002393	0,014674	0,001556	0,006866	0,000518
3	0,00289	0,000769	0,007406	0,002133	0,001838	0,001018
4	0,002997	0,00025	0,006222	0,004743	0,001718	0,000724
5	0,005654	0,005142	0,004545	0,002638	0,003902	0,002656
7	0,003177	0,00214	0,005359	0,003503	0,007594	0,004178
9	0,006145	0,00184	0,006127	0,002737	0,008363	0,000242
10	0,002874	0,001383	0,002828	0,00084	0,003442	0,001742
12	0,00204	0,00159	0,007408	0,002608	0,007925	0,000389

Anexos

“

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

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Comitê de Ética em Pesquisa

Processo nº 169/2011

Bauru, 1 de dezembro de 2011.

Senhora Professora,

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado **"Efeito in situ de uma goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea - Fosfato de cálcio amorfo (CPP- ACP) na erosão dentária"**, de autoria de Catarina Ribeiro Barros de Alencar, que será desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação e apreciado em reunião realizada no dia **30 de novembro de 2011**.

O CEP-FOB/USP considerou o projeto **APROVADO** lembrando que a condição de aprovação da pesquisa propriamente dita exige o que segue:

- que sejam encaminhados ao CEP-FOB/USP relatórios anuais sobre o andamento da pesquisa (parciais e finais), conforme o cronograma apresentado;
- que sejam notificados ao CEP-FOB/USP, com a devida justificativa, qualquer modificação na metodologia e/ou título e a inclusão ou exclusão de autores;
- na apresentação do relatório final, incluir todos os TCLEs e/ou termos de doação de dentes devidamente assinados e rubricados.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Flávio Augusto Cardoso de Faria
Coordenador

Profª Drª Daniela Rios
Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-101 – C.P. 73
e-mail: cep@fob.usp.br – Fone/FAX (0xx14) 3235-8356
<http://www.fob.usp.br>