UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

MARIO TORIGOE

**Efeito de ácidos de origem extrínseca e intrínseca na evolução do processo
erosivo/abrasivo em dentina**

Ribeirão Preto
2016

MARIO TORIGOE

Efeito de ácidos de origem extrínseca e intrínseca na evolução do processo erosivo/abrasivo em dentina

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção de Grau de Mestre em Odontologia
Restauradora, área de Dentística

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Regina Guenka Palma-Dibb

Ribeirão Preto

2016

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

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do
Serviço de Biblioteca

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Torigoe, Mario

Efeito de ácidos de origem extrínseca e intrínseca na
evolução do processo erosivo/abrasivo em dentina. 2016

71 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Área
de concentração: Odontologia Restauradora - Opção: Dentística

Orientadora: Palma-Dibb, Regina Guenka

1. Dentina. 2. Erosão. 3. Abrasão. 4. Desgaste.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Torigoe, M. Efeito de ácidos de origem extrínseca e intrínseca na evolução do processo erosivo/abrasivo em dentina.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências. Programa: Odontologia Restauradora. Área de Concentração: Odontologia Restauradora. Opção Dentística. Ribeirão Preto, 2016.

Data da Aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho

À Deus que sempre está presente em cada momento da minha vida.

Aos meus amados pais Matsuko e Seito Torigoe (em memória), que sempre apoiaram cada passo da minha vida.

Agradecimento especial

À professora Dra. Regina Guenka Palma Dibb, pela amizade, ensinamentos, conselhos e apoio ao longo da minha jornada, contribuindo para meu crescimento profissional e pessoal. Grande professora, pesquisadora e orientadora.

À Dra. Juliana Jendiroba Faraoni Romano, pela amizade, ajuda e apoio durante a realização deste trabalho. Sempre lembrarei com carinho todos os agradáveis momentos que dividimos.

Muito Obrigado!

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, representado pela Diretora Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva e pelo Vice-diretor Prof. Dr. Arthur Belém Novaes Júnior.

À coordenação geral de Pós- Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Manoel Damião de Souza Neto.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pessoa do Prof. Dr. Manoel Damião de Souza Neto.

Ao chefe de Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Marcelo Oliveira Mazzetto.

Ao Carlos Feitosa dos Santos, secretário do curso de Pós-Graduação do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Aos Colegas de turma pela união e amizade que levarei deixará saudades.; e os funcionários e as pessoas de alguma forma colaboraram na execução desta pesquisa.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

RESUMO

Torigoe, Mario. Efeito de ácidos de origem extrínseca e intrínseca na evolução do processo erosivo/abrasivo em dentina. 2016. 71p. Dissertação – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* o efeito do ácido cítrico líquido, ácido clorídrico na forma de gás e líquido na evolução do processo erosivo associado ou não a abrasão do tecido dentinário. Foram simuladas situações diárias que ocorrem na Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) e no consumo de alguns tipos de refrigerantes. O estudo foi fatorial 3 X 2, tendo como fatores de estudo: exposição ao ácido em 3 níveis (ac. cítrico, ácido clorídrico na forma líquida e gasosa), abrasão em 2 níveis (sem e com escovação), o tempo foi analisado individualmente por ácido empregado para verificar a evolução do processo erosivo. Foram obtidos 60 espécimes de dentina (3 X 3 mm) a partir do terço cervical da raiz de incisivos bovinos, que foram isolados com resina composta, exceto a face a ser exposta aos desafios erosivos, que foi lixada e polida para planificar a superfície e remoção do cimento, metade desta face foi isolada com fita de silicone adesivo (controle). Os espécimes foram aleatoriamente divididos em 6 subgrupos (n=10). Foi realizado desafio erosivo com HCl líquido, pH=2; com gás do HCl, pH=2 ambos a 37°C e com ácido cítrico líquido, pH=2,7, com temperatura ambiente (22°C). A exposição foi de 20 segundos para os desafios com ácido clorídrico e por 5 minutos para o ácido cítrico em cada ciclo, repetidos 6 vezes. Após cada desafio erosivo, os corpos de prova ficaram imersos em saliva artificial por 1 hora, a 37°C, realizada ou não a abrasão e, em seguida, foram obtidas as imagens para as análises de perfil de desgaste, rugosidade de superfície, área, número e tamanho dos túbulos dentinários expostos. A abrasão foi realizada com escova elétrica por 10s e 200gf com dentifrício. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey (p<0,05). Pode-se observar que os ácidos cítrico e clorídrico (líquido) promoveu maior desgaste (p<0,05) do que o gás. A rugosidade foi mais intensa no ácido cítrico (p<0,05). Na morfologia da dentina o ácido clorídrico foi que promoveu maiores alterações (p<0,05). O fator tempo foi semelhante para todos os grupos e a escovação reduziu a rugosidade. Pode-se concluir que os diferentes ácidos promoveram um processo erosivo distinto, sendo que o gás de ácido clorídrico promoveu menor desgaste e o ácido cítrico, a maior rugosidade e o ácido clorídrico líquido promoveu maior alteração morfológica dos túbulos dentinários.

ABSTRACT

Torigoe, Mario. Effect of extrinsic and intrinsic source of acids in the evolution of the erosive/abrasive process in dentin. 2016. 71p. Dissertation– Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

The aim of this study was to evaluate in vitro the effect of liquid citric acid, hydrochloric acid in the form of gas and liquid in the evolution of erosion with or without abrasion of the dentin. Everyday situations were simulated occurring in Gastroesophageal Reflux Disease (GERD) and use of some types of soft drinks. The study was a factorial 3 x 2, with the study of factors: acid exposure in three levels (citric acid, hydrochloric acid in liquid and gaseous form), abrasion on two levels (with and without brushing), the time was analyzed individually by acid used to verify the evolution of erosion. There were obtained 60 samples of dentin (3 x 3 mm) from the cervical third of bovine incisors roots, which were lined with composite resin except the side to be exposed to erosive challenges, which was sanded and polished to plan surface and removal of cement, half of the face was covered with silicone adhesive tape (control). The specimens were randomly divided into 6 subgroups (n = 10). Erosive challenge was performed with liquid HCl, pH = 2; with gas HCl, pH = 2 both at 37°C and with liquid citric acid, pH 2.7, room temperature (22 ° C). Exposure was for 20 seconds with hydrochloric acid and challenges for 5 minutes to citric acid at each cycle, repeated 6 times. After each erosive challenge, the samples were immersed in artificial saliva for 1 hour at 37 ° C, performing or not the abrasion and then take the images to the wear profile analysis, surface roughness were obtained area, number and size of exposed dentinal tubules. The abrasion was performed with electric brush for 10 seconds and 200gf with toothpaste. The data were submitted to ANOVA and Tukey test (p <0.05). The time factor was similar in all groups and brushing reduced roughness. It can be seen that citric and hydrochloric acid (liquid) promoted increased wear (p <0.05) than the gas. The roughness was more intense citric acid (p <0.05). The morphology of the dentin hydrochloric acid was to the highest changes (p <0.05). The time factor was similar in all groups and brushing reduced roughness. It can be concluded that the different acids promoted a distinct erosion process, wherein hydrochloric acid gas promoted less wear and citric acid greater roughness and liquid hydrochloric acid promoted greater morphological changes of dentinal tubules.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. PROPOSIÇÃO	27
3. MATERIAL E MÉTODO	31
4. RESULTADOS	43
5. DISCUSSÃO	53
6. CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	65

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Epidemiologicamente vem sendo observado um aumento da prevalência do desgaste dental em todas as idades, (Mehta et al,2012; Dugmore, Rock, 2003; Al-Dlaigan et al, 2001; Nunn, 1996) sendo que na última década a erosão dental associada com abrasão tem recebido crescente atenção como fator de risco (Lussi et al,2011).

O desgaste dental é um processo irreversível e cumulativo com a idade (Salas et al, 2015; Mehta et al, 2012; Schlueter et al, 2012;) ocorrendo fisiologicamente, mas pode ser agravado por patologias. Pode ser de vários tipos, localizações e origens, podendo ser divididos em quatro causas distintas que normalmente atuam combinadas: atrição (desgaste mecânico pelo contato entre dentes), abrasão (desgaste mecânico do dente por contato com outro material), erosão (desgaste causado por substâncias químicas) e abfração (perda de estrutura dental por fadiga ocasionada por cargas oclusais) (Kitasako et al, 2015; Mehta et al, 2012; Grippo et al, 2012; Grippo, Simring, 1995). Porém, quando o desgaste é excessivo, incompatível para a idade pode afetar a estética e função, além de poder proporcionar dor pela exposição dentinária, sendo considerado como patológico (Salas et al, 2015; Mehta et al, 2012 Schlueter et al,2012).

Erosão Dental (ou Degradação) é definida como a perda de tecido duro dental por meio do contato com substâncias químicas (ácidos ou quelantes) sem o envolvimento de bactérias (ten Cate, Imfeld, 1996). A sua prevalência vem aumentando (Jaeggi, Lussi, 2014; Kreulen et al, 2010; Al-Dlaigan et al, 2001), com as mudanças de hábitos alimentares, principalmente nas sociedades ocidentais, onde o consumo de alimentos e bebidas potencialmente erosivas tem crescido. O uso rotineiro de isotônicos, alimentação diferenciada (consumo de frutas ácidas e alimentos industrializados) (Kitasako et al, 2015; Isaksson et al, 2014; Jaeggi, Lussi, 1999; Zero,1996), aumento do consumo de bebidas, como refrigerantes, (Isaksson, 2014; Schlueter et al, 2012; Jaeggi, Lussi, 1999; Zero, 1996; ten Cate, Imfeld, 1996; Nunn, 1996) promoveu um aumento da prevalência, contudo este aumento vem ocorrendo, além dos motivos já citados, devido a melhor compreensão do processo e mais diagnóstico de doenças provocadas pelo desgaste dental (Lussi et al, 2004; ten Cate, Imfeld, 1996; Mikami, Murayama,2015).

O processo erosivo promove a desmineralização superficial, provocando um enfraquecimento da superfície dental, que depende de vários fatores como frequência, duração e força do ácido que entra em contato com os dentes, além do fluxo, composição e capacidade tampão da saliva (Wiegand et al, 2007; Meurman, ten Cate, 1996; Zero, 1996). O processo de erosão na dentina é mais complexo que o ocorrido em esmalte, além de não ser totalmente compreendido. Na presença de um ácido, os minerais da região peritubular/ intertubular da dentina são removidos, depois a dentina peritubular é degradada, ampliando os túbulos dentinários. Por fim, uma camada superficial de matriz orgânica desmineralizada é exposta, com uma região parcialmente desmineralizada intermediária sobre dentina sadia (Buzalaf et al, 2012; Ganss et al, 2009a). A camada de dentina desmineralizada atua como uma barreira de difusão, retardando a desmineralização (Passos, 2013).

O ácido que promove a erosão dental pode ser de origem intrínseca, proveniente de ácidos endógenos. O ácido clorídrico é o principal ácido presente no estômago, podendo estar na forma de líquido e/ou de gás (Herregods et al, 2015; Dryahina et al, 2014; Wang et al, 2010; Higo et al, 2009; Sifrim et al, 1999). Pequenas quantidades de ácido escapando para o esôfago, principalmente na forma de gás, é considerado fisiológico, ocorrendo diariamente em todas as pessoas, sendo controlada pela anatomia e fisiologia normal do esôfago e estômago (Herregods et al, 2015; Mikami, Murayama, 2015; Surdea Blaga et al, 2013; Kessing et al, 2013), porém, quando ocorre algum problema na função normal do esfíncter gastroesofágico, quando há um aumento da diferença de pressão entre abdômen e tórax (obesidade mórbida e gravidez, por exemplo) ou ocorre alteração de contratilidade do esôfago, hiato muscular e/ou do estômago temos a Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE), (Mikami, Murayama, 2015). A Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE), que é uma condição comum em adultos, de caráter crônico, causado pelo fluxo retrógrado do conteúdo gástrico pela junção gastroesofágica (Herregods et al, 2015; Mikami, Murayama, 2015; Roesch-Ramos et al, 2014; Farahmand et al, 2013; Vakil et al, 2006).

Outra alteração, que vem aumentando na última década é a Desordem Alimentar (DA) sendo mais comuns Anorexia Nervosa (AN) e Bulimia Nervosa (BN) que são importantes desordens psiquiátricas, com AN apresentando a maior mortalidade entre desordens mentais (Hermont et al, 2014). O conhecimento dessas alterações é de grande

importância para o Cirurgião Dentista porque este monitora com certa frequência seus pacientes, possibilitando um diagnóstico de DA, uma vez que os adolescentes e adultos jovens apresentam maior incidência de desta doença (Hermont et al, 2014).

Os transtornos mais comuns são: azia, regurgitação ácida, dor no peito, náusea, tosse crônica, asma e rouquidão (Lippmann et al, 2009), pneumonia, laringite, úlceras de contato na laringe, bronquite crônica, erosão dental e halitose (Napierkowski & Wong, 2003). O consumo exagerado de gorduras, carboidratos, comida apimentada, álcool, refrigerantes carbonatados e café provavelmente está ligada a ocorrência da DRGE (Roesch-Ramos, 2014; Kahrilas et al, 2008).

O ataque à estrutura dental é causado pelo suco gástrico que tem um potencial destrutivo maior que outros tipos de ácidos exógenos provindos de bebidas ou frutas (Bartlett, 2001), o pH do suco gástrico tem o valor entre 1 e 2 (Wang, 2010) e alimentos e bebidas podem alcançar pH próximos, porém com a diferença de acidez titulável (volume de um produto alcalino necessário para neutralizar um ácido) que é muito maior para o suco gástrico (Bartlett, 2001). O ácido pode estar na forma líquida e gasosa; os gases acumulados no estômago são eliminados de forma fisiológica (relaxamento transitório do esfíncter gastroesofágico), na forma de eructações (Herregods et al, 2015; Sifrim et al, 1999; Wyman et al, 1990) ou não fisiológica (DRGE) onde pode haver retorno do conteúdo estomacal na forma de líquido ou na forma mista (líquido e gás) (Herregods et al, 2015; Sifrim et al, 1999).

Os gases também podem ser de origem extrínseca, estando presente no ambiente, como em fábricas que manuseiam produtos químicos ou mesmo em piscinas cloradas aquecidas (Wiegand, Attin, 2007; ten Cate, Imfield, 1996; Zero, 1996), ou está presente em alimentos, bebidas e medicamentos que são consumidos com alta frequência (Kitasako et al, 2015; Isaksson et al, 2014; Meurman, ten Cate, 1996; Wiegand, Attin, 2007). O ácido cítrico é muito utilizado como aditivo na indústria, tendo função acidulante, regulador de acidez, antioxidante e sequestrante (retira íons metálicos que poderiam afetar a qualidade do alimento), é utilizado em alimentos industrializados como carnes processadas, sorvetes, sucos, conservas, chocolates, massas, chás e até alimentos para bebês (ANVISA1.).

O processo de desgaste dental não é causado unicamente pela erosão e sim pela associação com outros fatores como a abrasão, que pode ser pela escovação

dos dentes, contato dos dentes com o bolo alimentar, ou mesmo por hábitos (Grippio et al, 2012; Grippo, Simring, 1995). Essa associação pode aumentar o desgaste superficial, porque a superfície desmineralizada pode ser removida durante a abrasão (Lussi et al, 2004; Attin et al, 2000; Attin et al, 1997), porém o desgaste pode ser reduzido com uma técnica de escovação adequada, com o uso de produtos pouco abrasivos (Imfield, 1996) e aguardando pelo menos trinta minutos para fazer a higiene após o contato com o ácido, pois a superfície dental desmineralizada, quando exposta a saliva, consegue recuperar gradativamente a sua resistência (Attin et al, 2004; Lussi et al, 2004; Attin et al, 2000).

Abrasão é devido à interação entre os dentes com objetos e/ou substâncias exógenas, tais como palitos de dentes, fio dental, pasta de dentes altamente abrasivas, escovas de dentes, tipo de cerda, pressão de escovação e pela ação abrasiva de alimentos (Levrini et al. 2014).

Várias pesquisas (Lechner et al. 2015; Hara, Zero 2014, Vukosavljevic et al 2014, Hara et al 2008 a e b; Wiegand et al 2008; Cheung et al 2005) vêm sendo realizadas na tentativa de alcançar um melhor entendimento dos processos envolvidos no desenvolvimento do desgaste dental erosivo, além do papel da saliva evolução do processo (Ganss et al 2009 b, Attin et al 2004). As variantes da escovação, o tipo de ácido, tempo de exposição, variações no pH, formas de medição da superfície erodida (Wiegand, Attin, 2011) estão diretamente ligadas com a dinâmica do desgaste e o seu grau. Observa-se uma grande variação nos delineamentos e parâmetros, os quais variaram desde tipos de produtos ácidos (suco de laranja, refrigerantes, bebidas energéticas, remédios, etc.), tempo de contato (segundos até dias) e frequência (1 a várias vezes por dia), tipos de saliva utilizadas (artificial ou humana), utilização ou não de escovação com aplicação de forças diferentes para simular condições diárias (Wiegand, Attin, 2011). Além disso, pouco se sabe como o ácido clorídrico na forma de gás atua na evolução do processo erosivo e como está associado à abrasão.

Assim, são necessários novos estudos comparando os diferentes tipos de ácidos, a forma de atuação e como o processo abrasivo afeta o desgaste dental para analisar a sua evolução, acompanhando as alterações morfológicas do tecido dentinário.

Proposição

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar in vitro o efeito do ácido cítrico líquido, ácido clorídrico na forma líquida e gasosa na evolução do processo erosivo associado ou não a abrasão do tecido dentinário.

Material e Método

3. MATERIAL E MÉTODO

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Dentística do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP). Foram utilizados equipamentos de microscopia óptica e microscopia confocal a laser.

Delineamento Experimental

Este estudo foi fatorial 3 X 2, tendo como fatores de estudo: Erosão em 3 níveis (erosão ácido cítrico, erosão HCl líquido, erosão HCl gasoso), abrasão em 2 níveis (com e sem escovação). O fator tempo foi analisado individualmente em cada grupo (intragrupo) e após cada ciclagem com os diferentes ácidos. As unidades experimentais foram 60 fragmentos de dentina radicular de incisivos bovinos, divididos em 3 grupos e 2 subgrupos ($n = 10$).

O estudo foi realizado de acordo com um delineamento em blocos completos casualizados. As variáveis de resposta quantitativa foram o perfil de desgaste, rugosidade superficial, número de túbulos, área e perímetro do lúmen dos túbulos da dentina, empregando microscopia confocal a laser (morfológica).

Obtenção dos Espécimes

Para a obtenção dos espécimes, foram selecionados incisivos bovinos íntegros, visivelmente sem manchas e sem desgaste acentuado, armazenados em solução de formol a 2%, com pH 7,0. Após limpeza adequada foram obtidos os espécimes radiculares de dimensões 3 mm x 3 mm seccionados próximo à junção cimento-esmalte com o auxílio da máquina de corte de precisão (Minitom, Struers A/S, DK-2610, Copenhagen, Dinamarca). Estes espécimes foram impermeabilizados com resina fotopolimerizável (Filtek™ Z350, cor A1, 3M ESPE, EUA), sem aplicação de sistema adesivo. A resina foi cuidadosamente acomodada sobre as faces dos espécimes, com exceção da superfície a ser analisada, e foi

fotopolimerizada com o fotopolimerizador DB 686 (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil- 600mW/cm²) por 20 segundos. Os fragmentos tiveram a superfície externa polida em politriz (Arotec APL-4, Arotec Indústria e Comércio, São Paulo-SP, Brasil) sob-refrigeração com lixa de granulação #600 e #1200 (Norton Abrasivos Ltda., São Paulo-SP, Brasil) durante um minuto, cada granulação, para padronizar a remoção do cimento e depois foi utilizado feltro e suspensão de alumina 0,3 e 0,05 µm (Arotec Sj 685, Arotec Indústria e Comércio, São Paulo- SP, Brasil). Ao final do polimento os espécimes foram limpos em água deionizada sob a ação do ultrassom por 10 minutos (Ultrasonic Cleaner T -1449 –D, Odontobrás Indústria e Comércio, Ribeirão Preto - SP, Brasil). Os corpos de prova foram armazenados em água destilada sob-refrigeração até o início do experimento.

Ao início do experimento, a metade dos fragmentos (1,5 x 3 mm) foram impermeabilizados com uma fita de silicone adesivo, com intuito de proteger a face do fragmento (controle), e a outra metade foi exposta a sequencia de desafios erosivos ou erosivo/abrasivo. Essa fita foi removida antes da obtenção das imagens e recolocada antes de cada desafio (Figura 1).

Figura 1 - Obtenção dos espécimes: A) Incisivo bovino. B) Secção da raiz; C) Impermeabilização com resina composta; D) Espécime com fita adesiva.

Grupos experimentais

Após seleção das amostras, estas foram aleatoriamente divididas em três grupos (n = 20) e então em dois subgrupos (n = 10), conforme descrito abaixo:

Grupos : AC: ácido cítrico
 HCl: ácido clorídrico
 HClg: gás do ácido clorídrico
Subgrupos: com escovação
 sem escovação

Desafios Erosivos

Em estudos preliminares foram definidas as concentrações e os pH das soluções de ácido cítrico, de HCl utilizados, bem como o tempo de exposição necessário para simular as condições bucais. Para produzir a solução de ácido cítrico 0,3%, adicionou-se 0,3 g de ácido cítrico (MERCK do Brasil) em 100 ml de água e ajustou-se o pH acrescentando NaOH (MERCK do Brasil) até atingir $\text{pH} \cong 2,7$. Para a solução de HCl 0,6% com $\text{pH} \cong 2,0$, adicionou-se 6ml de HCl (MERCK do Brasil) em 100 ml de água e para produzir o vapor de HCl com $\text{pH} \cong 2,0$, foi adicionado 214 ml de HCl em 286 ml de água aquecidos a temperatura suficiente para produzir vapor a temperatura de 37°C.

Foram realizados 6 ciclos de exposições simulando a ingestão/refluxo dos ácidos em um dia. Dessa forma, os protocolos determinados para os desafios erosivos foram os seguintes:

- Ácido Cítrico: cada espécime foi exposto a 5 ml de solução de ácido cítrico a 0,3% a 22°C. Os espécimes foram expostos ao ácido por 6 vezes pelo período de 5 minutos (sob agitação), sendo a solução trocada a cada desafio. (Figura 2)
- HCl líquido: cada espécime foi exposto a 5 ml de solução de ácido clorídrico a 0,6% a 37°C. Os espécimes foram expostos ao ácido por 6 vezes pelo período de 20 segundos (sob agitação), sendo a solução trocada a cada desafio. (Figura 2)
- Gás de HCl: cada espécime foi exposto ao gás à temperatura de 37°C. Os espécimes foram expostos ao gás por 6 vezes, com exposição de 20 segundos. (Figura 3)

Para a realização dos experimentos com gás, foi desenvolvido um dispositivo para manter as condições estáveis. Para obter o gás com $\text{pH} \cong 2,0$ a 37°C , a solução de HCl foi aquecida a ponto de manter o vapor na temperatura desejada. O dispositivo foi mantido fechado para garantir as condições do gás. O pH foi controlado com auxílio de fita papel indicador de pH (Acilit®, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) e a temperatura por meio de termômetro acoplado ao dispositivo.

Após cada desafio erosivo, os espécimes foram armazenados em saliva artificial a 37°C por uma hora e então foi realizada ou não a escovação (10 segundos), em seguida foi realizada a aquisição das imagens no microscópio confocal a laser LEXT OSL 4000® (Olympus, Japão). Entre cada ciclo os espécimes foram lavados em água deionizada.

O desgaste abrasivo foi realizado por meio de escovas elétricas (Oral-B, São Paulo, Brasil) de cabeça pequena e cerdas macias, as quais simulam a técnica rotacional de escovação. As escovas foram colocadas em um dispositivo para padronizar a posição e altura da escova no fragmento. Após posicionar os espécimes perpendicularmente às cerdas da escova dental, foi colocado para cada espécime, entre o fragmento (previamente umedecido com água deionizada) e a escova, 0,5 ml de gel dental (Sanifill, fase 2, São Paulo, Brasil) para criança, sem flúor e com sílica abrasiva. Durante a escovação foi aplicada uma força de 200 gramas (1,96 N) através de um peso colocado na cabeça da escova.

Figura 2 - Desenho esquemático do estudo com soluções ácidas líquidas.

Figura 3 - Desenho esquemático do estudo com gás de HCl.

Análises realizadas

Entre os desafios erosivos e erosivo/abrasivos, foi realizada a avaliação da topografia e análise da morfologia. Para poder realizar as análises foi removida delicadamente a fita adesiva da área controle (não submetida a nenhum tipo de desafio). Posteriormente os fragmentos foram posicionados paralelamente à mesa do microscópio confocal a laser (LEXT OLS4000[®], Olympus, Tokyo, Japão) com auxílio de paralelômetro (Polidental, Wilson, Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, Brasil). Para obtenção das imagens tomou-se o cuidado de sempre realizar a leitura na mesma região para posterior comparações.

As análises foram realizadas em 6 tempos logo após cada exposição. Para a rugosidade, foi realizada a análise antes do início da exposição obtendo a rugosidade inicial (Figura 4).

Figura 4 - Superfície do espécime antes do início da ciclagem. Toda a superfície foi analisada ($S_a - \mu m$)

A análise da rugosidade foi baseada em relação à área hígida (referência). Foi obtida uma imagem da região a ser desafiada (referência) e outra imagem da mesma região após cada desafio (erodida ou erodida/abrasionada) no aumento de

532x, em cada imagem foi analisada a rugosidade de superfície (S_a - μm) através de um software específico. Para análise dos dados foi empregado a diferença entre o inicial e os diferentes tempos de leitura (figura 5).

Figura 5 - Análise da rugosidade superficial

Para a avaliação do perfil de desgaste foi capturada uma imagem na região central do espécime. Cada imagem englobou as duas áreas: hígida (referência) e exposta (erodida ou erodida/abrasionada), em um aumento de 216x. Foram realizadas 10 leituras englobando a área hígida (referência) e exposta (erodida ou erodida/abrasionada), os dados foram obtidos por meio de um software específico (Figura 6).

Figura 6 - Imagem obtida para análise do perfil de desgaste, tendo a área controle como referência para análise do perfil.

Para análise do número de túbulos, área e perímetro do lúmen dos túbulos (com intuito de verificar o comportamento em relação a morfologia da dentina), foram capturadas 2 imagens da região central (superior e inferior) da superfície exposta (erodida ou erodida/abrasionada) em um aumento de 1290x. As análises do número de túbulos, área (μm^2) e perímetro (μm) do lúmen dos túbulos foram realizadas nas imagens adquiridas previamente e nas imagens adquiridas após erosão e erosão/abrasão, para posterior comparação dos dados (Figura 7). Os dados

foram obtidos por meio de um software específico. Como o grupo submetido a erosão por gás sem escovação apresentou nas leituras sem alteração em relação a inicial, este grupo não foi empregado na análise desses parâmetros, alterando o delineamento inicial fatorial 3x2, tornando um estudo com 1 único fator apenas, os diferentes tipos de desafios.

Figura 7 - Análise da área, perímetro e contagem de túbulos.

Análise dos dados

Os dados foram submetidos a análise prévia e como apresentaram distribuição normal e homogênea estes foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) a 2 critérios (erosão associado ou não a abrasão) e a 1 critério (número de túbulos, área e perímetro do lúmen dos túbulos) $p < 0,05$ e teste de Tukey para diferenciação da média a nível de significância de 5%.

Resultados

4. RESULTADOS

Rugosidade

Na análise dos dados pode-se observar que diferença estatisticamente significativa para o fator exposição, tendo o gás apresentado menor rugosidade e diferença significativa entre os outros ácidos ($p < 0,05$). Estes por sua vez foram semelhantes entre si. Em relação a escovação, esta promoveu uma menor rugosidade sendo estatisticamente significativa em relação ao grupo que não foi realizado o processo abrasivo ($p < 0,05$). Na interação dos fatores observou que os grupos gás e ácido cítrico, o fator escovação promoveu uma alteração da rugosidade significativamente ($p < 0,05$), sendo que o HCl na forma líquida foi que apresentou rugosidade semelhante para as duas situações ($p < 0,05$).

Tabela 1. Rugosidade Superficial (μm) dos diferentes grupos-subgrupos.

Grupo	Sem escovação	Com escovação
Acido Cítrico	$0,64 \pm 0,10c$	$0,38 \pm 0,16b$
Gás HCl	$0,16 \pm 0,08b$	$0,01 \pm 0,05a$
HCl	$0,49 \pm 0,08b$	$0,44 \pm 0,09b$

Mesma letra indica similaridade estatística $p > 0,05$

Na figura 8 pode-se observar a evolução da rugosidade para os diferentes tempos avaliados. Verificou-se que o comportamento em relação ao tempo foi distinto para os diferentes grupos-subgrupos avaliados, bem como o individual de cada ácido.

Figura 8 - Rugosidade (µm) dos diferentes grupos-subgrupos em relação ao tempo.

Figura 9 - Espécimes após as ciclagens. A-C: imersão em ácido cítrico: A) após 1º ciclo; B) após 3º ciclo; C) após 6º ciclo; D-F: exposição ao gás do HCl associado a abrasão: D) após 1º ciclo; E) após 3º ciclo; F) após 6º ciclo.

Na figura 9 pode-se observar a textura superficial dos espécimes, com ácido cítrico (Figura 9 A-C) e verifica-se que a superfície foi gradativamente tornando-se mais rugosa, contudo quando se associou a escovação (Figura 9 D-F – ácido clorídrico na forma de gás) a superfície tornou-se mais lisa.

Perfil de desgaste

Na análise dos dados pode-se observar que diferença estatística significativa para o fator exposição, tendo ácido cítrico apresentado desgaste estatisticamente semelhante ao HCL líquido ($p>0,05$) e ambos difeririam estatisticamente significativa do HCl na forma de gás ($p<0,05$). Em relação a escovação o desgaste foi semelhante ao que não foi realizado o processo abrasivo ($p>0,05$). Na interação dos fatores observou que para todos os grupos o fator escovação não promoveu uma alteração do desgaste significativa ($p>0,05$).

Tabela 2. Perfil de desgaste (μm) dos diferentes grupos-subgrupos.

Grupo	Sem escovação	Com escovação
Acido Cítrico	4,85 $\pm$ 0,87b	4,16 $\pm$ 0,31b
Gás HCl	2,18 $\pm$ 1,07a	3,00 $\pm$ 0,75a
HCl	4,11 $\pm$ 0,57b	4,14 $\pm$ 0,59b

Mesma letra indica similaridade estatística $p>0,05$

Nas figuras 10 e 11 pode-se observar a evolução do desgaste para os diferentes tempos avaliados. Verificou-se que o comportamento em relação ao tempo foi semelhante para todos os grupos-subgrupos avaliados, sendo que estes apresentaram comportamento distinto.

Figura 10 - Perfil de desgaste (μm) dos diferentes grupos-subgrupos em relação ao tempo.

Figura 11 - Espécimes após as ciclagens. A-C imersão em ácido cítrico: A) após 1º ciclo B) após 3º ciclo C) após 6º ciclo; D-F imersão em ácido clorídrico associado a abrasão: D) após 1º ciclo E) após 3º ciclo F) após 6º ciclo.

Área, perímetro e número de túbulos

Nessa análise pode-se observar o grupo gás sem escovação não promoveu exposição dos túbulos dentinários e assim na análise dos dados ele foi excluído de todas as análises.

Em relação á área dos túbulos pode-se observar diferença significativa entre eles ($p < 0,05$), tendo ácido clorídrico e o cítrico promovido túbulos mais expostos e quando se associou a escovação houve um decréscimo significativo da área ($p < 0,05$).

Tabela 3. Área do túbulo (μm^2) dos diferentes grupos.

	Média* *	DP ($\pm$)
HCl	9,51 a	2,60
HCl+esc	6,56 bc	1,03
*Gas	0,00	0,00
Gas+esc	4,88 c	0,65
Ac. Cítrico	8,01 ab	1,31
Ac. Cítrico+esc	5,26 c	0,75

*o grupo foi excluído na análise dos dados. **Mesma letra indica similaridade estatística.

Na figura 12 observa-se que o ácido cítrico e o ácido clorídrico líquido promoveram uma maior área de túbulos expostos que se manteve mais alta em todos os tempos analisados.

Figura 12 - Área (μm^2) dos túbulos expostos dos diferentes grupos em relação ao tempo.

No perímetro pode-se observar o mesmo padrão da área de túbulos, onde se pode observar diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$), tendo ácido clorídrico e o cítrico promovido maior ampliação dos túbulos e quando se associou a escovação houve um decréscimo significativo do perímetro ($p < 0,05$).

Tabela 4. Perímetro (μm) dos diferentes grupos.

	Media	DP ($\pm$)
HCl	11,30 a	1,93
HCl+esc	9,10 bc	0,80
Gas+esc	7,76 c	0,61
Ac Cítrico	10,20 ab	0,96
Ac Cítrico+esc	8,08 c	0,67

Mesma letra indica similaridade estatística.

Na figura 13 pode-se observar que o perímetro apresentou comportamento semelhante com a área, tendo o ácido cítrico e o ácido clorídrico líquido apresentado maior perímetro e manteve-se estável com o decorrer do tempo de exposição.

Figura 13 - Perímetro (μm) dos túbulos expostos dos diferentes grupos em relação ao tempo.

No numero dos túbulos pode-se observar o mesmo padrão da área de túbulos, onde se pode observar diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$), tendo ácido clorídrico e o cítrico promovido maior ampliação dos túbulos e quando se

associou a escovação houve um decréscimo significativo ($p < 0,05$) apenas para o ácido cítrico. O gás sozinho não foi possível fazer a análise, mas quando se associou com a escovação foi possível visualizar a exposição dos túbulos.

Tabela 5. Numero de túbulos dos diferentes grupos.

	Media	DP
HCl	230,67 a	144,86
HCl+esc	165,37 abc	41,61
Gas+esc	94,72 bc	42,41
Ac Cítrico	198,79 ab	146,17
Ac Cítrico+esc	70,14 c	36,83

Mesma letra indica similaridade estatística

Na figura 14 pode observar que o ácido clorídrico líquido promoveu maior exposição de túbulos e quando se realizou a escovação ocorreu uma diminuição gradativa dos túbulos expostos com o tempo. O ácido cítrico promoveu túbulos abertos da mesma maneira independente da escovação.

Figura 14 - Número de túbulos expostos dos diferentes grupos-subgrupos em relação ao tempo.

A figura 15 representa o comportamento dos grupos com ácidos sozinho (Figura 15 A, B, E e F) onde se observa túbulos com as embocaduras ampliadas e um grande numero de túbulos expostos; e com as soluções ácidas associada a abrasão (Figura 15 C,D, G e H), em que se verifica uma diminuição do numero de túbulos expostos e sem aumento das embocaduras.

Figura 15 - A-D: exposição ao ácido cítrico, A) após 1º ciclo B) após 6º ciclo C) com abrasão 1º ciclo D) com abrasão 6º ciclo E-H: exposição ao ácido clorídrico, E) após 1º ciclo F) após 6º ciclo G) associado a abrasão 1º ciclo H) associado a abrasão 6º ciclo.

Discussão

5. DISCUSSÃO

O desgaste dental ocasionado pela perda de estrutura dentária não mediada por microrganismos é relativamente comum, mas atualmente está recebendo maior atenção, devido a diminuição dos casos de cárie em muitas sociedades (Lussi et al, 2004) e o aumento de sua incidência (Jaeggi, Lussi, 2014; Mehta et al, 2012; Kreulen et al, 2010; Dugmore, Rock, 2003; Al-Dlaigan et al, 2001; Nunn, 1996). Com o envelhecimento da população e a melhora dos cuidados de saúde, conseguiu-se a manutenção dos dentes por mais tempo, aumentando o número de Lesões Cervicais Não Cariosas (Saeki et al, 2015; Wood et al, 2008), e na última década, erosão dental e a associação com abrasão, tem recebido uma grande atenção como fator de risco para danificar a estrutura dental (Lussi et al, 2011).

A prevalência de erosão dental em dentes permanentes de crianças e adolescentes, encontrando uma média de 30,4%, com índices variando de 7,2% a 74% (Salas, 2015). Esta grande variação são devida aos vários tipos de índices usados para detecção clínica de erosão dental (Salas et al, 2015; Kreulen et al, 2010) e pela dificuldade de diagnóstico por diferentes profissionais. Observa-se que o desgaste dental apresenta um aumento da prevalência com a idade (Van't Spijker et al, 2009), porém os pacientes vem sendo acometidos cada vez mais jovens (Kontaxopoulou, Alam, 2015; Isaksson et al, 2014; Schlueter et al, 2012; Kreulen et al, 2010).

Os mecanismos envolvidos no Desgaste Dental podem ser muito variados, dependendo do tipo de ácido, o pH, a frequência, bem como a susceptibilidade do paciente (Grippio et al, 2012; Lussi et al, 2011) e assim, as pesquisas são muito diversas, por exemplo, utiliza-se ácidos de diferentes origens como suco de laranja (Ferreira et al, 2015; Zandim et al, 2008), refrigerante – ácido fosfórico (Kato, Buzalaf, 2012; Bartlett, Coward, 2001), ácido clorídrico (Hermont et al, 2014; Higo et al, 2009; Bartlett, Coward, 2001); portanto, não existe uma padronização para a realização destas pesquisas, bem como a compreensão do processo inicial de erosão. Assim, o presente estudo empregou duas soluções ácidas e sendo uma delas tanto na forma de gás como de líquido em apenas 6 ciclos de erosão.

Os possíveis fatores etiológicos do desgaste dental podem ser as desordens alimentares (como NA, BN e aerofagia por exemplo) e doença refluxo gástrico esofágico (DRGE), que provocam o retorno do conteúdo estomacal (suco gástrico e seus vapores, além de alimentos) através do esfíncter gastroesofágico atingindo as vias aéreas e a boca, sendo o principal componente do suco gástrico, o ácido clorídrico (Herregods et al, 2015; Dryahina et al, 2014; Wang et al, 2010; Higo et al, 2009; Sifrim et al, 1999). Dessa maneira, o presente estudo selecionou o ácido clorídrico, como ácido de origem intrínseca, nas formas líquida e gasosa. Em um estudo realizado com pacientes com DRGE e sob tratamento com terapias ácido supressoras, verificou-se que 49,4% dos episódios de refluxo são compostos somente por líquido e o restante é composto pela mistura líquido/gás (Tutuian et al, 2008). Outro estudo comparou indivíduos saudáveis com portadores de DRGE, verificando que em indivíduos saudáveis a presença de gás, isolado ou na mistura do conteúdo estomacal, durante episódios de refluxo é maior, em relação aos doentes, (68% x 51%); durante um episódio de refluxo o líquido precede o gás em 77% dos casos (Sifrim et al, 2001). Pode-se concluir que o gás está presente em mais da metade dos episódios de refluxo, podendo ser expelido fisiologicamente na forma de eructações (Sifrim et al, 1999; Wyman et al, 1990).

Além dos fatores intrínsecos, os extrínsecos estão ganhando importância no desgaste dental, pois o ácido pode ser oriundo da alimentação e/ou ambiente. Entre os ácidos que podem ocasionar o processo erosivo, tem-se o ácido cítrico (Barac et al, 2015; Wang et al, 2014; Kato, Buzalaf, 2012; Al-Dlaigan et al, 2001; Grenby et al, 1989). O ácido cítrico, que é um ácido orgânico fraco natural, presente na maioria das frutas, é muito utilizado como aditivo na indústria, com função acidulante, regulador de acidez, antioxidante e sequestrante (retira íons metálicos que poderiam afetar a qualidade do alimento), é utilizado em alimentos industrializados como carnes processadas, sorvetes, sucos, conservas, chocolates, massas, chás e até alimentos para bebês (ANVISA; Jaeggi, Lussi, 1999). Os ácidos orgânicos têm a função de penetrar a membrana externa das bactérias, modificando o funcionamento celular como pH, permeabilidade da membrana, osmolaridade e síntese proteica (Menconi et al, 2013; Van Immerseel et al, 2006). Sendo o a solução preferida para ser utilizada comercialmente para minimizar os efeitos incontrolláveis de outros

ingredientes (Jaeggi e Lussi, 1999), sendo o motivo de ser escolhida solução de ácido cítrico no presente estudo.

Para simular o ambiente bucal, em metade dos grupos foi realizada a abrasão através da escovação com escova elétrica, em cada ciclo erosivo. Utilizou-se a força de 200 gramas (1.96N), como simulação da força utilizada pelas pessoas ao escovar os dentes. (Ganss et al, 2009b,c). Para não influenciar a ação dos ácidos sobre a estrutura dentária optou-se utilizar um dentífrício sem flúor, com baixa abrasividade para que a ação do abrasivo não sobressaia sobre ação erosiva do ácido.

Para avaliar a progressão do processo erosivo simulando o que ocorre na cavidade bucal os espécimes foram imersos em saliva artificial por uma hora antes de novos desafios erosivos ou abrasivo/erosivo. A saliva tem a função de proteção natural dos dentes, com fluxo salivar, sua capacidade tampão, pH e composição (Grippio et al, 2012; Zero,1996), além da formação da película adquirida que tem a função, entre outras, de barreira de difusão, restringindo o transporte de íons da estrutura dental (Vukosavljevic et al, 2014; Cheung et al, 2005), porém existe uma diferença na capacidade de proteção em esmalte e em dentina, sendo mais limitada em dentina (Shellis et al, 2010; Wiegand et al, 2008).

A região cervical dos dentes é mais vulnerável a lesões cervicais não cariosas, pois o cemento e a dentina não possuem muita resistência a fatores ambientais, e o esmalte forma uma fina camada nesta região (Walter et al, 2014). A região cervical pode ser considerada a área de maior risco para ocorrer o processo de abfração, iniciando as lesões nesta região (Walter et al, 2014; Grippio et al, 2012), e como ela está constantemente sob stress mecânico, e associado ao baixo pH, acelera o processo de erosão (Staninec et al, 2005; Levitch et al, 1994). Desta forma, foi escolhida a dentina da região cervical para a realização deste estudo.

Diversas formas de medição podem ser utilizadas para avaliar os processos de desgaste erosivo, com métodos quantitativos - Análise Química de Minerais Dissolvidos, Dureza Superficial, Perfilometria Superficial, Microradiografia entre outras, e com métodos qualitativos e semi quantitativos como Microscopia de Transmissão, Microscopia Confocal a Laser, Microscopia Eletrônica de Varredura, porém todos os métodos apresentam limitações (Schlueter et al, 2011; Field et al, 2010). A Microscopia Confocal a Laser 3D (MCL) é um dos meios para a obtenção de

imagens em 3D, não destrutivo, produzindo imagens de alta qualidade de várias profundidades, permitindo avaliar topografia e morfologia dos tecidos sem preparo prévio, e com relativa rapidez (Schlueter et al, 2011; Field et al, 2010). O MCL permite a obtenção de parâmetros como perfilometria, rugosidade, a contagem de túbulos dentinários abertos, assim como o diâmetro e área interna destes. Desta forma, foi utilizado o MCL para realizar todas as análises realizadas.

Foi observada diferenças na forma de atuação dos ácidos, sendo que o ácido clorídrico na forma líquida provocou perda tecidual semelhante ao ácido cítrico, sendo muito menos agressivo o ácido clorídrico na forma de gás. Contudo o tempo de exposição para cada tipo de ácido foi diferente (20s para o HCl e 5min para o ácido cítrico). A literatura tem poucas pesquisas para serem comparadas, Bartlett e Coward em 2001 compararam suco gástrico com bebidas carbonatadas (cola), encontrando diferenças significativas para a liberação de cálcio. Porém os refrigerantes de cola não possuem ácido cítrico em sua formula; Azadi-Schossig et al em 2015 comparou a ação de várias concentrações de HCl e ácido cítrico, porém avaliando efeitos apenas em esmalte. Em outra pesquisa Higo et al, em 2009, comparou HCl líquido com HCl gás, porém neste estudo também foi avaliada apenas a ação em esmalte. Não foi observando estudos com ciclos erosivos em dentina para comparação na forma de gás.

O ácido clorídrico na forma de gás provocou menor desgaste, a diferença de resultados entre HCl líquido e gasoso provavelmente se deve ao estado físico do ácido, estando mais unidas e em maior contato na forma líquida e dispersas quando gasoso (Toro, 2015), contudo a rugosidade foi mais intensa na forma de gás, provavelmente devido ao estado físico da matéria proporcional uma alto grau de desordem em função ao deslocamento livre das partículas.

A atuação do ácido cítrico é diferente por sua ação quelante, onde o ácido cítrico reage com os íons de cálcio presente nos cristais de hidroxiapatita, causando mudanças na microestrutura e na relação Ca-P (De-Deus, 2006). Devido a esta característica, foi observado uma maior rugosidade superficial, uma vez que apenas os íons de cálcio são removidos, alterando parte da estrutura, deixando-a mais irregular e frágil e expondo o colágeno.

Porém a progressão do processo erosivo é dependente do tempo. Com o passar do tempo, um processo lento como o apresentado pelo gás do HCl, pode provocar uma grande destruição tecidual. Vanuspong et al (2002) estudaram a ação do tempo utilizando ácido cítrico, obtendo conclusões semelhantes, porém utilizou-se de apenas uma exposição que variava na duração (2 a 4 horas).

Pode-se observar no presente estudo que o processo abrasivo não influenciou o perfil de desgaste, este fato provavelmente se deu pelo tipo de dentifrício empregado, de baixa abrasividade e pela resistência das fibras colágenas desmineralizadas que resistem a escovação normal (Ganss et al, 2009b; Kuroiwa et al, 1994), resultados semelhantes foram observados por Scaramucci et al (2016). Além disso, o presente estudo realizou o processo de abrasão 1 hora após a erosão e que nesse tempo os espécimes ficaram armazenados em saliva artificial. Seguindo a recomendação da literatura (Attin et al, 2004; Lussi et al, 2004; Attin et al, 2000) em aguardar um período mínimo de 30 minutos, após contato com algum ácido, para remineralização da estrutura. Por outro lado, a abrasão promoveu uma menor rugosidade superficial, e menor quantidade de túbulos expostos. Provavelmente, a associação de desafios erosivos com abrasão reduziu a agressividade dos ácidos. A redução pode ser explicada por um provável entrelaçamento da matriz orgânica, que se mantém na superfície dentinária após exposição a produtos erosivos (Ganss et al, 2009b; Hara et al, 2005) ou a formação de uma camada de *smear layer* com a mistura de certos abrasivos com as fibras colágenas, durante a escovação, obliterando os túbulos dentinários (Kuroiwa et al, 1994).

Pouco se sabe sobre a morfologia da evolução de um processo erosivo, como área e perímetro dos túbulos expostos, afinal as variáveis são muitas. A maioria dos estudos publicados compara a evolução do processo erosivo variando o tempo de exposição ao ácido, comparando as imagens e presumindo a evolução. Neste estudo observou-se que a exposição por curtos períodos a desafios erosivos, não ocorreram alterações na estrutura dos túbulos dentinários, provavelmente pela proteção proporcionada pelas fibras colágenas.

Outra variável que deve ser considerada é que as metaloproteínases, que estão presentes na dentina desmineralizada e também na saliva, uma vez ativada, degrada a dentina desmineralizada (fibras colágenas). Isto pode alterar o

comportamento do processo de erosão, pois a presença da dentina desmineralizada tem a função de barreira de difusão, retardando o processo; mas todo esse processo ainda não é totalmente conhecido (Buzalaf et al, 2012). Para tentar inibir o processo erosivo, várias formas estão sendo testadas, sendo a aplicação de flúor a mais comum (TiF_4 , AmF , SnF_2) (Wiegand et al, 2014; 2010), outra forma é a utilização de inibidores da Matriz de Metaloproteinases, como o chá verde (De Moraes et al, 2016; Ganss et al, 2014) e fluoreto de sódio (Kato et al, 2014), ou ainda acrescentando substâncias nas bebidas e alimentos, alterando o mecanismo da erosão (Ferreira et al, 2015; Kato e Buzalaf, 2012). Contudo ainda é necessário o diagnóstico dos agentes causais para realmente controlar o processo.

O Desgaste Dental é um processo irreversível e cumulativo com a idade. O diagnóstico tardio ou um erro de diagnóstico pode levar a perdas irreversíveis, comprometimento da vitalidade pulpar, funcionalidade e estética (Salas et al, 2015; Mehta et al, 2012; Schlueter et al, 2012). Assim é importante frisar que o papel dos cirurgiões dentistas é vital para identificar sinais iniciais de problemas como a bulimia nervosa e anorexia nervosa em pacientes jovens, e distinguir alterações como a causada pelo gás do HCl, pessoas com Distúrbio refluxo gastroesofágico ou outros distúrbios alimentares. A distinção se dá velocidade de progressão do processo, normalmente pacientes com bulimia e anorexia há uma rápida destruição dentária. Os pacientes com DRGE ou outros distúrbios que apresentam erosão associada a alimentação podem apresentar destruição em vários níveis. Com o constante acompanhamento dos pacientes, pode-se evitar sequelas de doenças não diagnosticadas.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

Baseado na metodologia empregada e nos resultados obtidos, pode-se concluir que os diferentes ácidos apresentaram-se no processo erosivo/abrasivo dentinário comportamento distintos, sendo que o ácido clorídrico na forma de gás foi que promoveu o menor desgaste e o ácido cítrico e clorídrico líquido apresentaram desgaste. A rugosidade foi mais influenciada pelo ácido cítrico deixando a superfície mais irregular, entretanto a escovação promoveu melhor lisura superficial. O tempo não influenciou o desgaste e rugosidade. Os ácidos alteraram a morfologia em relação ao perímetro, área e número de túbulos. A escovação afetou positivamente a rugosidade e a morfologia superficial.

Referências

REFERÊNCIAS*

- Al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith A. Dental erosion in a group of British 14-year-old school children. Part II: Influence of dietary intake. *Br Dent J*. 2001 Mar 10;190(5):258-61.
- Attin T, Koidl U, W Buchalla , Schaller HG , Kielbassa AM , Hellwig E. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*. 1997 Mar;42(3):243-50.
- Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res*. 2000 Jan-Feb;34(1):48-52.
- Attin T, Siegel S, Buchalla W, Lennon AM, Hannig C, Becker K. Brushing abrasion of softened and remineralised dentin: na in situ study. *Caries Res*. 2004; 38: 62-6.
- Azadi-Schossig P, Becker K, Attin T. Chelating effect of citric acid is negligible for development of enamel erosions. *Clin Oral Investig*. 2015 Nov 7.
- Barac R, Gasic J, Trutic N, Sunaric S, Popovic J, Djekic P, Radenkovic G, Mitic A. Erosive effect of different soft drinks on enamel surface in vitro: application of stylus profilometry. *Med Princ Pract*. 2015;24:451-7.
- Bartlett DW, Coward PY. Comparison of the erosive potential of gastric juice and a carbonated drink in vitro. *J Oral Rehabil*. 2001; 28(11):1045-7.
- Buzalaf MA, Kato MT, Hannas AR. The role of matrix metalloproteinases in dental erosion. *Adv Dent Res*. 2012; 24(2):72-6.
- Cheung A, Zid Z, Hunt D, McIntyre J. The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model-a pilot study. *Aust Dent J*. 2005; 50(4):228-34.
- De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MHP. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int J Endod* 2006 Maio; 39 (5):. 401-7.
- DE Moraes MD, Carneiro JR , Passos VF , Santiago SL. Effect of green tea as a protective measure against dental erosion in coronary dentine. *Braz Oral Res*. 2016;30(1).
- Dugmore CR, Rock WP. The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. *Int J Paediatr Dent*. 2003 Sep;13(5):295-303.

* De acordo com o Estilo Vancouver.

Farahmand F, Sabbaghian M, Ghodousi S, Seddighoraee N, Abbasi M. Gastroesophageal reflux disease and tooth erosion: a cross-sectional observational study. *Gut Liver*. 2013 Mai;7(3):278-81.

Ferreira SS, Scaramucci T, Hara AT, Aoki IV, Sobral MA. Supplementation of an orange juice with dietary proteins to prevent enamel and dentin erosion. *Braz Dent J*. 2015 May-Jun;26(3):263-7.

Field J, Waterhouse P, German M. Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *Journal of Dentistry*.38(2010)182-0.

Ganss C, Lussi A, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N. Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res*. 2009; 43(6):422-9.a

Ganss C, Hardt M, Blazek D, Klimek J, Schlueter N. Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine. *Eur J Oral Sci*. 2009 Jun;117(3):255-60.b

Ganss C, Schlueter N, Preiss S, Klimek J. Tooth brushing habits in uninstructed adults--frequency, technique, duration and force. *Clin Oral Investig*. 2009 Jun;13(2):203-8.c

Ganss C , Klimek J, Schlueter N. Erosion/abrasion-preventing potential of NaF and F/Sn/chitosan toothpastes in dentine and impact of the organic matrix. *Caries Res*. 2014;48(2):163-9.

Grenby TH, Phillips A, Desai T, Mistry M. Laboratory studies of the dental properties of soft drinks. *Br J Nutr*. 1989 Sep;62(2):451-64.

Grippio JO, Simring M. Dental 'erosion' revisited. *J Am Dent Assoc*. 1995; 126(5):619-20, 623-4, 627-30.

Grippio JO, Simring M, Coleman TA. Abfraction, abrasion, biocorrosion and the enigma of noncarious cervical lesions: a 20-year perspective. *J Esthet Restor Dent*. 2012;24(1):10-23.

Hara AT, Ando M, Cury JA , Serra MC , González-Cabezas C , Zero DT . Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. *Caries Res*. 2005 Mar-Apr;39(2):134-8.

Hara AT, Karlinsey RL, Zero DT. Dentine remineralization by simulated saliva formulations with different Ca and Pi contents. *Caries Res*. 2008;42(1):51-6.a

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 Dec;116(6):552-6.b

Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:197-205.

Hermont AP, Oliveira PAD, Martins CC, Paiva SM, Pordeus IA, Auad SM. Tooth Erosion and Eating Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis PLoS One. 2014; 9(11): e111123.

Herpertz-Dahlmann B. Adolescent eating disorders: Update on definitions, symptomatology, epidemiology and comorbidity. Child Adolesc Psychiatric Clin N Am. 24(2015)177-96.

Herregods TV, Bredenoord AJ, Smout AJ. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: new understanding in a new era. Neurogastroenterol Motil. 2015 Sep;27(9):1202-13.

Higo T, Mukaisho K, Ling ZQ, Oue K, Chen KH, Araki Y, et al. An animal model of intrinsic dental erosion caused by gastro-oesophageal reflux disease. OralDis.2009Jul;15(5):360-5.

Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci. 1996 Apr;104(2(Pt2)):151-5.

Isaksson H, Birkhed D, Wendt LK, Alm A, Nilsson M, G Koch. Prevalence of dental erosion and association with lifestyle factors in Swedish 20-year olds. Acta Odontol Scand. 2014 Aug;72(6):448-57.

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

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

Kahrilas PJ, Shaheen NJ , Vaezi MF , Hiltz SW , Preto E , Modlin IM et al. American Gastroenterological Association Medical Position Statement on the management of gastroesophageal reflux disease. Gastroenterology. 2008 Oct;135(4):1383-1391, 1391.e1-5.

Kato MT, Buzalaf MA. Iron supplementation reduces the erosive potential of a cola drink on enamel and dentin in situ. J Appl Oral Sci. 2012 May-Jun;20(3):318-22.

Kato MT, Bolanho A, Zarella BL, Salo T, Tjäderhane L, Buzalaf MA. Sodium fluoride inhibits MMP-2 and MMP-9. J Dent Res. 2014 Jan;93(1):74-7.

Kreulen CM, Van 't Spijker A , Rodriguez JM , Bronkhorst EM , Creugers NH, Bartlett DW . Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. Caries Res. 2010;44(2):151-9

Kontaxopoulou I, Alam S. Risk Assessment for Tooth Wear. Prim Dent J. 2015 Aug;4(3):25-9.

Kuroiwa M , Kodaka t , Kuroiwa H , Abe M . Dentin hypersensitivity. Occlusion of dentinal tubules by brushing with and without an abrasive dentifrice. J Periodontol. 1994 Apr;65(4):291-6.

Lechner BD, Röper S, Messerschmidt J, Blume A, Magerle R. Monitoring Demineralization and Subsequent Remineralization of Human Teeth at the Dentin-Enamel Junction with Atomic Force Microscopy. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015 Sep 2;7(34):18937-43.

Levitch LC, Bader JD, Shugars DA. Non-carious cervical lesions. *J Dent*. 1994 Ago;22(4):195-207.

Levrini L, Di Benedetto G, Raspanti M. Dental wear: a scanning electron microscope study. *Biomed Res Int*. 2014;2014:340425.

Lippmann QK, Crockett SD, Dellon ES, Shaheen NJ. Quality of life in GERD and Barrett's esophagus is related to gender and manifestation of disease. *Am J Gastroenterol*. 2009 Nov;104(11):2695-703.

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, 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.

Mehta SB, Banerji S, Millar BJ, Suarez-Feito JM. Current concepts on the management of tooth wear: part 1. Assessment, treatment planning and strategies for the prevention and the passive management of tooth wear. *Br Dent J*. 2012 Jan 13;212(1):17-27.

Menconi A, Shivaramaiah S, Huff GR, Prado O, Morales JE, Pumford NR et al. Effect of different concentrations of acetic, citric, and propionic acid dipping solutions on bacterial contamination of raw chicken skin. *Poult Sci*. 2013 Aug;92(8):2216-20.

Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*. 1996; 104: 199-06.

Mikami DJ, Murayama KM. Physiology and Pathogenesis of Gastroesophageal Reflux Disease. *Surg Clin North Am*. 2015 Jun;95(3):515-525.

Napierkowski J, Wong RK. Extraesophageal manifestations of GERD. *Am J Med Sci*. 2003 Nov;326(5):285-99.

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

Passos VF, Melo MA, Vasconcellos AA, Rodrigues LK, Santiago SL. Comparison of methods for quantifying dental wear caused by erosion and abrasion. *Microsc Res Tech*. 2013; 76(2):178-83.

Ranjitkar S, Smales RJ, Kaidonis JA. Oral manifestations of gastroesophageal reflux disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 27(2012)21-7.

- Roesch-Ramos L, Roesch-Dietlen F, Remes-Troche JM, Romero-Sierra G, Mata-Tovar Cde J, Azamar-Jácome AA, Barranca-Enríquez A. Dental erosion, an extraesophageal manifestation of gastroesophageal reflux disease. The experience of a center for digestive physiology in Southeastern Mexico. *Rev Esp Enferm Dig.* 2014 Feb;106(2):92-7.
- Saeki K, Marshall GW, Gansky SA, Parkinson CR, Marshall SJ. Strontium effects on root dentin tubule occlusion and nanomechanical properties. *Dent Mater.* 2016 Feb;32(2):240-51.
- Salas MM, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: an epidemiological systematic review and meta-regression analysis. *J Dent.* 2015 Jan;43(1):42-50.
- Scaramucci T, João-Souza SH, Lippert F, Eckert GJ, Aoki IV, Hara AT. Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents. *Caries Res.* 2016 Mar 2;50(2):104-110.
- Schlueter N, Jaeggi T, Lussi A. Is dental erosion really a problem? *Adv Dent Res.* 2012 Sep;24(2):68-71.
- Shellis RP, Barbour ME, Jones SB, Addy M. Effects of pH and acid concentration on erosive dissolution of enamel, dentine, and compressed hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2010 Oct;118(5):475-82.
- Sifrim D, Silny J, Holloway RH, Janssens JJ. Patterns of gas and liquid reflux during transient lower oesophageal sphincter relaxation: a study using intraluminal electrical impedance. *Gut.* 1999 Jan;44(1):47-54.
- Sifrim D, Holloway R, Silny J, Xin Z, Tack J, Lerut A, Janssens J. Acid, nonacid, and gas reflux in patients with gastroesophageal reflux disease during ambulatory 24-hour ph-impedance recordings. *Gastroenterol.* 2001 Jun;120(7):1588-98.
- Staninec M, Nalla RK, Hilton JF, Ritchie RO, Watanabe LG, Nonomura G, Marshall GW, Marshall SJ. Dentin erosion simulation by cantilever beam fatigue and pH change. *J Dent Res.* 2005 Abr;84(4):371-5.
- Surdea Blaga T, Dumitrascu D, Galmiche JP, Bruley des Varannes S. Functional heartburn: clinical characteristics and outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Mar;25(3):282-90.
- ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):241-4.
- Toro CVT. Prevenção da degradação da dentina radicular exposta ao ácido clorídrico [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

Tutuian R, Vela MF, Hill EG, Mainie I, Agrawal A, Castell DO. Characteristics of symptomatic reflux episodes on acid suppressive therapy. *Am J Gastroenterol*. 2008 Mai;103(5):1090–6.

Uhlen MM, Tveit AB, Stenhagen KR, Mulic A. Self- induced vomiting and dental erosion – a clinical study. *BMC Oral Health*. 2014; 14:92.

Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol*. 2006 Aug;101(8):1900-20; quiz 1943.

Van Immerseel F, Russel JB, Flythe MD, Gantois I, Timbermont L, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R. The use of organic acids to combat Salmonella in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathol*. 2006 Jun;35(3):182-8.

Van't Spijker A, Rodriguez JM, Kreulen CM, Bronkhorst EM, Bartlett DW, Creugers NH. Prevalence of tooth wear in adults. *Int J Prosthodont*. 2009 Jan-Feb;22(1):35-42.

Vanuspong W, Eisenburger M, Addy M. Cervical tooth wear and sensitivity: erosion, softening and rehardening of dentine; effects of pH, time and ultrasonication. *J Clin Periodontol*. 2002;29:351-7.

Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MAR, Hara AT, Siqueira WL. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Arch Oral Biol*. 2014; 59(6):631-8.

Walter C, Kress E, Götz H, Taylor K, Willershausen I, Zampelis A. The anatomy of noncarious cervical lesions. *Clin Oral Investig*. 2014 Jan;18(1):139-46.

Wang GR, Zhang H, Wang ZG, Jiang GS, Guo CH. Relationship between dental erosion and respiratory symptoms in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *J Dent*. 2010;38(11):892-8.

Wang YL, Chang CC, Chi CW, Chiang YC, Chuang YC, Chang HH, Huang GF, Liao YS, Lin CP. Erosive potential of soft drinks on human enamel: an in vitro study. *J Formos Med Assoc*. 2014 Nov; 113(11):850-6.

Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med (Lond)*. 2007; 57(3):169-76.

Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhães AC, Sener B, Attin T. Impact of the *in situ* formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand*. 2008 August; 66 (4): 225-30.

Wiegand A, Hiestand B, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Attin T. Effect of TiF₄, ZrF₄, HfF₄ and AmF on erosion and erosion/abrasion of enamel and dentin in situ. *Arch Oral Biol*. 2010 Mar;55(3):223-8.

Wiegand A, Attin T. Design of erosion /abrasion studies – Insights and rational concepts. *Caries Res.* 2011; 45 (suppl 1):53-9.

Wiegand A, Schneider S, Sener B, Roos M, Attin T. Stability against brushing abrasion and the erosion-protective effect of different fluoride compounds. *Caries Res.* 2014;48(2):154-62.

Wood I, Jawad Z, Paisley C, Brunton P. Non-carious cervical tooth surface loss: a literature review. *J Dent.* 2008 Oct;36(10):759-66.

Wyman JB, Dent J, Heddle R, Dodds WJ, Toouli J, Downton J. Control of belching by the lower oesophageal sphincter. *Gut.* 1990 Jun;31(6):639-46.

Zandim DL, Corrêa FO, Rossa Júnior C, Sampaio JE. In vitro evaluation of the effect of natural orange juices on dentin morphology. *Braz Oral Res.* 2008 Apr-Jun;22(2):176-83.

Zero DT. Etiology of dental erosion--extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104:162-77.