CAMILA SCATENA

**EFEITOS DE UM MEDICAMENTO ANTIASMÁTICO
POTENCIALMENTE EROSIVO NO ESMALTE E DENTINA DE DENTES
DECÍDUOS: ESTUDO *IN SITU***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências. Programa: Odontopediatria. Área de concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Mônica Campos Serra

Ribeirão Preto

2014

AUTORIZAÇÃO PARA REPRODUÇÃO

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

Scatena, Camila

Efeitos de um medicamento antiasmático potencialmente erosivo no esmalte e dentina de dentes decíduos. Ribeirão Preto, 2014.

63p.: il, 30 cm.

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP - Área de Concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Serra, Mônica Campos

1. Erosão; 2. Dentes Decíduos; 3. Esmalte; 4. Medicamentos.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Scatena C. Efeitos de um medicamento antiasmático potencialmente erosivo no esmalte e dentina de dentes decíduos: Estudo *in situ*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências. Programa: Odontopediatria. Área de concentração: Odontopediatria.

Data da defesa: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

DADOS CURRICULARES

CAMILA SCATENA

Nascimento	07/10/1985 – Londrina– PR
Filiação	Angelo Domingos Scatena Sílvia Maria Bonassi
2004-2007	Curso de Graduação Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP
2006-2007	Iniciação Científica. Projeto de Pesquisa intitulado “Influência da distância focal do <i>laser</i> Er:YAG na resistência ao cisalhamento da interface dentina/ resina em dentes decíduos” (Bolsa CNPq).
2009-2011	Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível Mestrado. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP. Dissertação intitulada “Efeito erosivo de medicamentos pediátricos de uso prolongado em esmalte de dentes decíduos” (Bolsa CNPq).
2011-2014	Curso de Pós Graduação em Odontopediatria, nível Doutorado. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP. Tese intitulada “Efeitos de um medicamento antiasmático potencialmente erosivo no esmalte e dentina de dentes decíduos: Estudo <i>in situ</i> ” (Bolsa CAPES).
2012	Especialização em Odontopediatria. Conselho Federal de Odontologia.
2013	Empossada como cirurgiã dentista na Prefeitura Municipal de São Francisco de Paula – RS.

"Nós somos feitos da matéria de que são feitos os sonhos."

William Shakespeare

Dedico este Trabalho,

A **Deus**, pela vida e pela saúde. Obrigada por me proteger e iluminar o meu caminho. Agradeço pelos desafios e adversidades que me fizeram crescer, pelo conforto nos momentos de dor. Obrigada pelas pessoas que colocou em minha vida, sem as quais nada faria sentido. Obrigada por mais esta conquista.

Ao meu pai, **Angelo Domingos Scatena**, pelo amor e força que me manda de onde estiver. Obrigada por tudo! Sinto Saudades... E a minha mãe, **Silvia Maria Bonassi**, pelo amor, cuidados e ensinamentos. Agradeço a vocês por não medirem esforços para investir em minha educação e me incentivar a continuar estudando, buscando evoluir sempre. Obrigada por tudo o que fizeram por mim!

Ao meu noivo, **Daniel Galafassi**, por seu amor e apoio intensos, pelo exemplo de homem e profissional! Muito obrigada pelo incentivo, pelo carinho e ajuda em todos os momentos dessa trajetória. Essa conquista também é sua! Obrigada por encher minha vida de luz! Te amo!

À minha querida irmã, **Liliana Scatena**. Obrigada pelo seu amor, incentivo e amizade. Agradeço por poder compartilhar com você as coisas mais importantes da minha vida, tanto as boas quanto as ruins. A cada dia descobrimos o sentido da irmandade.

À minha avó, **Gessília Camilo Bonassi**. Obrigada pela palavra amiga, pelo carinho e acolhimento que sempre teve comigo e que foram especialmente importantes nessa etapa de minha vida. Te amo vó!

Agradecimentos Especiais

À minha orientadora, **Prof. Dra. Mônica Campos Serra**.

Exemplo de retidão de caráter, ética e profissional. Obrigada por transmitir seus conhecimentos e experiências na ciência e na vida. Obrigada pelo apoio, pelo investimento, pela compreensão, dedicação e pela amizade construída ao longo desses 5 anos de pós-graduação. Expresso meus sinceros agradecimentos, meu profundo respeito e admiração eterna! Tenho orgulho em ser sua discípula!

À professora **Dra. Maria Cristina Borsatto**.

Uma mãe, no sentido mais amplo da palavra! Entrou em minha vida há 10 anos, como tutora, durante a graduação e continua guiando meus passos. Cris, minha mestre, eu não tenho palavras para agradecer seu carinho, amizade, orientação, ensinamentos, abraços, risadas, conselhos, oportunidades (quantas!). Você é a maior responsável pela profissional Odonopediatra que sou hoje e futura Acupunturista. É uma honra ser sua "filha Borsalette"!

As minhas amigas e colegas de profissão, **Késsia Suênia Fidelis de Mesquita Guimarães, Marta Maria Martins Giamatei Contente e Andrea Okusu**. Vocês são anjos em minha vida! Obrigada pela amizade, companheirismo, apoio e risadas. Sem vocês essa trajetória teria sido muito mais difícil!

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do atual diretor **Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros** e da Vice-Diretora **Prof. Dr^a. Lêa Assed Bezerra da Silva**.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Coordenadora **Prof.^a Dr.^a Lêa Assed Bezerra da Silva**.

Aos Professores do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo **Prof.^a Dr.^a Lêa Assed Bezerra da Silva**, **Prof.^a Dr.^a Aldevina Campos de Freitas**, **Prof. Dr. Paulo Nelson-Filho**, **Prof.^a Dr.^a Alexandra Mussolino de Queiroz**, **Prof.^a Dr.^a Kranya Victória Díaz Serrano**, **Prof.^a Dr.^a Maria Cristina Borsatto**, **Prof.^a Dr.^a Raquel Assed Bezerra da Silva**, **Prof.^a Dr.^a Mírian Aiko Nakane Matsumoto**, **Prof. Dr. José Tarcísio Lima Ferreira**, **Prof. Dr. Adílson Thomazinho**, **Prof.^a Dr.^a Maria Bernadete Sasso Stuaní**, **Prof.^a Dr.^a Maria da Conceição Pereira Saraiva**, **Prof. Dr. Fábio Lourenço Romano**, **Prof.^a Dr.^a Andíara De Rossi** e **Prof. Dr. Fabrício Kitazono de Carvalho**, pela agradável convivência, pelas conversas atenciosas e pelos valiosos ensinamentos durante a minha formação acadêmica e científica.

Aos voluntários que participaram da pesquisa: **Daniel, Késsia, Andrea, Liliانا, Denise, Mariana, Marta, Rodrigo G., Rodrigo V., Ana Bárbara, Gabriela, Marília e Driely**. Muito obrigada! Sem a colaboração de vocês essa pesquisa não seria possível!

Ao **Prof. Dr. Antônio Luiz Rodrigues Júnior**, pela disponibilidade, pelo auxílio e orientação na análise estatística dos resultados.

À **Prof.^a Dr.^a Regina Palma Guenka-Dibb**, pelas conversas, convivência e ensinamentos; pelo microscópio confocal *laser* (Olympus LEXT OLS4000*) utilizado nesta pesquisa, e pela orientação na análise morfológica das imagens deste trabalho.

À **Prof.^a Dr.^a Silmara Aparecida Milori Corona**, pela alegre convivência, orientações e amizade.

À técnica do laboratório de Dentística da FORP-USP **Patrícia Marchi**, pela convivência, disponibilidade e ajuda na realização da parte experimental deste trabalho.

À especialista de laboratório da Dentística da FORP-USP **Juliana Jendiroba Faraoni Romano** pela amizade, disponibilidade e orientações.

Ao secretário do Programa de Pós-graduação de Odontologia Restauradora da FORP-USP, **Carlos Feitosa dos Santos** pelas orientações e convivência.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Micheli Cristina Leite Rovanholo**, **Filomena Leli Placciti**, **Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva**, **Carolina Paes Torres Mantovani**, **Marília Paçífico Lucisano**, **Marco Antonio dos Santos**, **Carmo Eurípedes Terra Barretto**, **Nilza Letícia Magalhães**, **Fátima Aparecida Rizoli**, **Fátima Aparecida Jacinto Daniel**, **Renata Aparecida Fernandes** e **Matheus Morelli Zanela**, pela alegre convivência, amizade, paciência e prontidão para nos atender.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Isabel Cristina Galino Solá** e **Regiane Cristina Moi Sacilloto**, pela atenção e por estarem sempre à disposição.

Ao **Prof. Dr. Rodrigo Galo**, pela amizade, pelas risadas, pela parceria, pelos ensinamentos e pela ajuda na tabulação do trabalho.

Aos meus sogros, **Maria Inês Poloni Galafassi** e **Itacir Antônio Galafassi**, pelo apoio, carinho, compreensão e ajuda na fase "ponte aérea RAO-POA" deste trabalho.

Aos amigos da Pós-Graduação, **Cíntia Guimarães de Almeida**, **Danielle Torres Azevedo**, **Rodrigo Alexandre Valério**, **Talitha de Siqueira Mellara**, **Elaine Machado Pinguero**, **Daniela Silva Barroso de Oliveira**, **Fernanda Regina Ribeiro Santos**, **Cristina Bueno Brandão**, **Larissa Moreira Spinola de Castro**, **Marcela C. D. Andrucio**, **Walter Raucci Neto**, **Maya Fernanda Manfrin Arnez**, **Marta Maria Martins Giamatei Contente**, **Késsia Suênia Fidelis de Mesquita Guimarães**, **Taísa Penaso Lepri**, **Renata Scatolin**, **Gabriela Santin**, **Mariana Alencar Nemésio**, **Ana Bárbara Loiola**, **Sofia Sampaio**, **Driely Barreiros**, **Júlia Olien Sanches**, **Aline Mori**, **Marília Pacífico Lucisano**, **César Penaso Lepri**, **Alessandra Marques Corrêa Afonso**, **Lídia Hidalgo**, **Jerônimo Manço de Oliveira Neto**, **Juliana dos Reis Derceli**, pela agradável convivência, pelo companheirismo, pelos valiosos momentos compartilhados, pelo apoio, incentivo e amizade.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior – CAPES**, pela bolsa de estudo Doutoral (2011-2013).

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq** (processo 309219/2009-4), pela verba necessária para o desenvolvimento da pesquisa, como compra de material permanente e de consumo; pagamento de serviços da Oficina de Precisão USP e protético; diárias para participação em eventos (Erosion 2010 e 2014; IADR 2011; Conferência de Integração Científica UFRGS-UCSF-UNIUBE) e pelos equipamentos (processo 471564/2003-6).

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP** (processos 2003/02150-8; 2004/07613-9; 2004/07613-9), pelos equipamentos laboratoriais fundamentais para a realização da pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	14
PROPOSIÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO	38
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	54
APÊNDICE	61

RESUMO

SCATENA C. **Efeitos de um medicamento antiasmático potencialmente erosivo no esmalte e dentina de dentes decíduos: estudo *in situ***. Ribeirão Preto, 2014. 61 pág. [Tese de Doutorado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2014.

O uso prolongado de medicamentos ácidos na cavidade bucal de crianças com desordens crônicas causam preocupação, devido ao risco de erosão dental. O objetivo deste estudo foi avaliar, *in situ*, o efeito de um medicamento antiasmático de uso prolongado (Sulfato de Salbutamol) no esmalte e dentina de dentes decíduos. Molares decíduos foram seccionados, de forma a obter fragmentos de esmalte e de dentina (3 x 3 x 2 mm) da porção coronária. Os espécimes foram esterilizados, incluídos em resina epóxica, planificados, polidos sob refrigeração, e inspecionados em microscópio ótico quanto à presença de trincas. Vinte e oito espécimes de esmalte e 28 de dentina foram selecionados e armazenados. A microdureza Knoop, a morfologia microscópica e a rugosidade das superfícies iniciais foram avaliadas. Quatorze voluntários usaram dispositivos palatinos, contendo dois fragmentos de dentina e dois de esmalte, posicionados dos lados direito e esquerdo, em nichos 1 mm abaixo da superfície palatina. Neste experimento *split mouth*, os voluntários realizaram o tratamento das superfícies três vezes ao dia (às 8 h, 12 h e 17 h) por 5 dias consecutivos, gotejando *ex vivo* 5 ml de Sulfato de Salbutamol, por 1 min, somente nos espécimes de um dos lados do aparelho, definido por sorteio. Os espécimes contralaterais do dispositivo palatino não foram submetidos ao desafio erosivo (Controle). Após o término do experimento, os espécimes foram removidos dos aparelhos e verificou-se a morfologia microscópica, a rugosidade, o perfil de desgaste e a microdureza das superfícies. Os resultados foram avaliados pelo teste estatístico não paramétrico de Friedman, utilizando a mediana da diferença dos valores finais e iniciais para todas as variáveis de resposta. Nas superfícies de esmalte expostas ao medicamento, observou-se erosão nas imagens de microscopia, aumento significativo da rugosidade ($p=0,0325$) e do perfil de desgaste ($p=0,03251$) e diminuição da microdureza Knoop ($p=0,0325$), em relação ao Controle. Nas superfícies de dentina foi observada erosão apenas nas imagens de microscopia. Não foi constatado aumento significativo na rugosidade ($p=0,593$), no perfil de desgaste ($p=0,285$), tampouco diminuição da microdureza Knoop ($p=0,1088$). Pode se concluir que o Sulfato de Salbutamol teve efeito erosivo *in situ* no esmalte de dentes decíduos e na dentina de dentes decíduos este efeito foi observado apenas morfológicamente.

Palavras-chave: erosão dentária, dentes decíduos, medicamento.

ABSTRACT

SCATENA C. **Effects of a potentially erosive anti-asthmatic medication on enamel and dentin of primary teeth: an *in situ* study.** Ribeirão Preto, 2014. 61 p. [Doctoral Thesis]. Ribeirão Preto: School of Dentistry, University of São Paulo; 2014.

Prolonged use of acidic drugs in the oral cavity of children with chronic disorders cause concern, because of the risk of dental erosion. The aim of this study was to evaluate the *in situ* effect of a long term relief anti-asthmatic drug (salbutamol sulphate) on enamel and dentin of primary teeth. Deciduous molars were sectioned to obtain slabs of enamel and dentin (3 x 3 x 2 mm) of the crowns. The slabs were sterilized, embedded in epoxy resin and polished planned under refrigeration and inspected by an optical microscope for the presence of cracks. Twenty-eight specimens of enamel and dentin 28 were selected and stored. The Knoop microhardness, roughness and 3D morphology of the baseline surfaces were examined. Fourteen volunteers wore palatal appliances containing two specimens of dentin and two specimens of enamel, positioned in niches 1 mm below the surface on the right and left sides. In this split mouth experiment, the subjects underwent surface treatment 3 times per day (8 h, 12 h and 17 h) for 5 days, dripping *ex vivo* 5 ml of salbutamol sulphate for 1 min in only one side of the palatal device, defined by lottery. After the end of the experiment, the specimens were removed from the palatal device and were verified the microscopic morphology, roughness, confocal profilometry and Knoop microhardness of the dentin and enamel surfaces. The results were evaluated by the nonparametric Friedman test using the median difference of the final and initial values for all analyses. For the primary enamel surfaces exposed to the drug were observed erosion on microscopy images, the mean increase in roughness ($p = 0.0325$) and tooth surface loss ($p = 0.03251$) and a significant decrease in microhardness ($p = 0.0325$) compared to the control group. Dentin erosion was observed only in microscopy images. There was not observed a significant increase of dentin roughness ($p = 0.593$) and tooth surface loss ($p = 0.285$) or microhardness decrease ($p = 0.1088$). It can be concluded that the salbutamol sulphate had an *in situ* erosive effect on enamel of primary teeth and on dentin of primary teeth this effect was observed only morphologically.

Key-words: tooth erosion, primary teeth, medicines.

Introdução

INTRODUÇÃO

A erosão dentária tem acometido cada vez mais a população mundial, inclusive crianças (Barbour e Rees, 2006; Wiegand *et al.*, 2006; Lussi e Jaeggi, 2008). Esse processo crônico patológico é caracterizado pela perda localizada de tecido dentário duro, quimicamente removido da superfície dental por ácidos e/ou por quelação, sem envolvimento bacteriano (ten Cate e Imfeld, 1996). O pH crítico para ocorrer a desmineralização que pode resultar em erosão do esmalte e da dentina, *in vivo*, é por volta de 5,5 e 6,5, respectivamente (Dawes, 2003).

Durante o processo de erosão, os agentes ácidos ou quelantes interagem com a superfície dos cristais de hidroxiapatita após se difundirem pelo biofilme dentário, se presente, pela película adquirida e pela camada de lipídeos e proteínas (Lussi, 2006). Quando o íon hidrogênio age diretamente sobre a superfície do esmalte, ele se combina com o carbono e/ou fosfato e promove uma desmineralização ácida, devido à remoção dos minerais da superfície do cristal (Lussi, 2006).

Esse processo pode estar relacionado a fatores extrínsecos e intrínsecos. Os fatores intrínsecos estão relacionados a distúrbios gastroesofágicos, bulimia e anorexia nervosa (Zero, 1996). Os fatores extrínsecos são mais variados e estão relacionados aos hábitos alimentares e ao estilo de vida moderna, incluindo o uso contínuo de medicações ácidas (Nixon *et al.*, 2002; Hellwig e Lussi, 2006).

Medicamentos orais líquidos são frequentemente prescritos para o tratamento pediátrico, pois facilitam a aceitação pela criança (Nunn *et al.*, 2001). Em sua formulação, em geral, são adicionadas sacarose, frutose e/ou glucose para melhorar o paladar (Bradley e Kinirons, 1998). Esses açúcares aceleram o processo de fermentação bacteriana, liberando ácidos e consequentemente diminuindo o pH do biofilme dental (Maguire e Rugg Gunn, 1994). A diminuição do pH provoca diluição iônica dos cristais de hidroxiapatita e pode aumentar o risco de cárie (Maguire *et al.*, 2007). Independente da presença de açúcares, os xaropes e medicamentos líquidos pediátricos, em geral, tem pH abaixo do

crítico para dissolução do esmalte, como comprovou Maguire *et al.*, em 2007 que também constatou que a presença de açúcares ou edulcorantes em medicamentos pediátricos não afeta o potencial erosivo da droga.

Os ácidos podem ser utilizados para melhorar o sabor e manter a estabilidade química da droga, garantindo a compatibilidade fisiológica, bem como para promover reações ácido-base, as quais possibilitam que o medicamento se disperse em contato com a água (Nunn *et al.* 2001; Maguire, 2007).

De acordo com Rugg-Gunn (1998), existem três fatores para que um ácido contribua para o potencial erosivo: a quantidade de ácido disponível (acidez titulável); a quantidade de ácido realmente presente (a concentração de íons H^+ ou o pH); a força relativa dos ácidos ou a facilidade com que o ácido libera íons H^+ livres (pKa).

O ácido cítrico é o principal ácido utilizado nos medicamentos de uso oral, tanto em comprimidos efervescentes como nos líquidos (Maguire *et al.*, 2007). Este ácido é um potente agente erosivo com ação dupla que pode ser muito prejudicial à superfície dentária, pois além da ação dos íons hidrogênio, ânions ácidos (citratos) podem se complexar com o cálcio, reduzindo a supersaturação da saliva e dissolver a superfície dos cristais do esmalte (Lussi *et al.*, 2004; Lussi e Jaeggi, 2008).

O uso prolongado de medicamentos ácidos na cavidade bucal de crianças com distúrbios crônicos causam preocupação (Feigal *et al.*, 1984; Fleming *et al.*, 1986; Maguire *et al.*, 2007), principalmente pela frequência de ingestão (3 a 4 vezes ao dia) e pelo uso noturno, período em que os efeitos protetores da saliva estão diminuídos. A viscosidade da solução e a diminuição do fluxo salivar, decorrente de efeito colateral do medicamento, também podem contribuir para a erosão dental (Linnett e Seow, 2001; Hellwig e Lussi, 2006). O efeito de medicações nas estruturas dentárias foi avaliado por alguns autores (Sullivan e Kramer, 1983; Giunta, 1983; Shaw *et al.*, 2000; Grace *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2006; Maguire *et al.*, 2007; Babu *et al.*, 2008; Valinoti *et al.*, 2011), porém somente em trabalhos *in vitro*.

Clinicamente, a erosão dental leve mostra, na superfície vestibular e lingual, uma superfície lisa, vítrea, às vezes plana, esmalte com ausência de periquimáceas e esmalte intacto ao longo da margem gengival, podendo causar sensibilidade dentinária (Lussi e Jaeggi, 2008). Em estágios mais avançados, há alterações na morfologia do esmalte, com concavidades, cuja largura excede a sua profundidade. A progressão da erosão oclusal leva a um arredondamento das cúspides, e as margens das restaurações ficam acima do nível das superfícies dos dentes adjacentes (Lussi e Jaeggi, 2008). Pode ocorrer perda da dimensão vertical, comprometimento estético e em casos graves, exposição pulpar (Nunn *et al.*, 2001; Luo *et al.*, 2005).

Como indivíduos com erosão na dentição decídua tem um maior risco de desenvolver erosão na dentição permanente (Ganss *et al.*, 2001), o diagnóstico precoce e intervenção desde a tenra idade ajudarão a evitar danos aos dentes permanentes (Taji e Seow, 2010).

A principal estratégia para prevenir e controlar a progressão das lesões de erosão é remover a fonte de ácidos ou prevenir que os agentes erosivos atinjam as superfícies dos dentes (Imfeld, 1996). No entanto, nem sempre isso é possível, como no caso da ingestão de medicações de uso crônico.

Enquanto está desmineralizando o esmalte fica mais sujeito à abrasão, acelerando a perda de tecido dental superficial (Amaechi *et al.*, 2001; Attin *et al.*, 2001; Barbour *et al.*, 2006). Portanto, a escovação, mesmo que com dentifrício fluoretado, pode causar abrasão e desgaste dental quando realizada logo após os desafios erosivos (Wiegand *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2009).

A saliva, considerada um fator modulador biológico de extrema importância, pode influenciar a cinética de formação e progressão da erosão (Amaechi e Higham, 2001), por meio de suas propriedades de capacidade tampão, diluição dos ácidos, remineralização e formação da película adquirida (Hara *et al.*, 2006). A remineralização *in vivo* pode ocorrer se a saliva conseguir tamponar o ácido e se o pH retornar acima do crítico para a dissolução do esmalte e da dentina (Lussi, 2006). Nesse processo, íons cálcio e fosfato, juntamente com o

flúor participam formando as apatitas fluoretadas que são mais resistentes aos desafios ácidos do que a apatita carbonatada e a hidroxiapatita (Lussi, 2006).

Dentre os medicamentos infantis de uso prolongado que podem causar erosão, destacam-se os broncodilatadores/antiasmáticos (Babu *et al.*, 2008; Valinoti *et al.*, 2011; Scatena *et al.*, 2014).

A asma é uma doença pulmonar que causa inflamação e obstrução reversível das vias aéreas. É considerada um problema de saúde mundial e sua prevalência tem aumentado em muitos países, principalmente entre crianças (Bateman *et al.*, 2008). O tratamento da asma se baseia em evitar os estímulos nocivos e controlar os sintomas com medicações antiasmáticas (Bateman *et al.*, 2008). O Sulfato de Salbutamol é um medicamento broncodilatador amplamente utilizado em pacientes asmáticos de forma crônica. Apresenta pH 3,6 (abaixo do crítico para dissolução do esmalte), contém ácido cítrico, que é um potente quelante de cálcio, e ainda tem como efeito colateral a diminuição do fluxo salivar, devido sua ação nos receptores β adrenérgicos (Ryberg *et al.*, 1991). Não obstante, o Sulfato de Salbutamol é um medicamento administrado geralmente três vezes ao dia, inclusive durante a noite, quando o fluxo salivar é diminuído. Seu efeito erosivo, *in vitro*, (Scatena *et al.*, 2014) já foi demonstrado, no entanto, não existem trabalhos que demonstrem o mesmo efeito na cavidade bucal.

Estudos *in situ* representam uma etapa intermediária entre os experimentos laboratoriais e clínicos e sua condução fundamenta-se na tentativa de reproduzir o processo a ser estudado sob influência de fatores biológicos (Zero, 1995), como o efeito protetor da saliva. Adicionalmente, os modelos intrabuciais possibilitam uma proximidade da realidade clínica, simultaneamente à preservação da sensibilidade técnica dos modelos *in vitro* (ten Cate e Imfeld, 1996).

Portanto, é importante avaliar, *in situ*, o efeito do medicamento de uso prolongado Sulfato de Salbutamol no esmalte e na dentina de dentes decíduos.

Proposição

PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- Avaliar qualitativamente, por meio de microscopia confocal, o efeito *in situ* do Sulfato de Salbutamol na morfologia das superfícies de esmalte e dentina de dentes decíduos;
- Avaliar quantitativamente, por meio de microdureza Knoop, rugosidade e perfil de desgaste, o efeito *in situ* do Sulfato de Salbutamol nas superfícies de esmalte e dentina de dentes decíduos.

_____ *Material e Métodos*

MATERIAIS E MÉTODOS

ASPECTOS ÉTICOS E VOLUNTÁRIOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP (CAAE 1534613.200005419 - Anexo A) e será conduzido de acordo com as regulamentações sobre pesquisas em seres humanos do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (Resolução nº 196, de 10 de Outubro de 1996).

Quatorze voluntários, de ambos os sexos, residentes em Ribeirão Preto, não vulneráveis, com idade entre 18-35 anos, esclarecidos, com disponibilidade de tempo para comparecer à faculdade nos horários estipulados, foram selecionados após o recrutamento espontâneo realizado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto para este estudo.

Após receberem todas as informações correspondentes à execução da pesquisa, os voluntários foram submetidos à anamnese e ao exame clínico, em que foram checados critérios de inclusão e exclusão (quadro 1). Os riscos e benefícios da pesquisa foram apresentados aos indivíduos, que, ao concordarem em participar da mesma, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, aceitando o convite de participação e autorizando a realização do experimento (Apêndice). Os participantes tiveram liberdade para desistir da pesquisa a qualquer momento, sem qualquer sanção ou constrangimento.

Quadro 1- Critérios de inclusão e exclusão para participar da pesquisa

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
<ul style="list-style-type: none"> Boa saúde geral Ausência de lesões ativas de cárie Inexistência de lesões não cariosas e superfícies radiculares expostas Fluxo salivar estimulado $\geq 0,7$ ml/min Disponibilidade para seguir a programação do experimento 	<ul style="list-style-type: none"> Distúrbio gastroesofágico Gravidez Uso de aparelhos ortodônticos ou próteses dentais Tabagismo Uso de medicamentos que interfiram no fluxo salivar

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este estudo *in situ* testou o efeito do medicamento no esmalte e na dentina de dentes decíduos. O fator em estudo foi o Medicamento, em dois níveis: Sulfato de Salbutamol e Controle (sem tratamento);

Inicialmente, 14 voluntários usaram um dispositivo palatino contendo dois fragmentos de esmalte e dois de dentina por um período de *lead-in* de 1 dia. Após este período, os voluntários aplicaram o medicamento (vide bula em anexo B) sobre um espécime de esmalte e um de dentina de apenas um lado do aparelho, previamente aleatorizado, 3 vezes ao dia, durante 5 dias, mantendo o outro lado como Controle, caracterizando o experimento como Split-mouth.

As variáveis de resposta foram: morfologia (microscopia confocal), microdureza Knoop (KNH), rugosidade (Ra - μm) e profundidade de desgaste (Rv- μm).

As hipóteses nulas testadas foram que a rugosidade, a profundidade de desgaste e a microdureza das superfícies expostas ao medicamento não difeririam daquelas observadas para os grupos Controle, tanto para o substrato esmalte quanto para dentina.

CONFEÇÃO DOS DISPOSITIVOS INTRABUCAIS

As arcadas superior e inferior de cada voluntário foram moldadas com hidrocolóide irreversível (Tropicalgin, Zhermack, Itália) para a obtenção dos respectivos modelos de trabalho. Os dispositivos palatinos foram confeccionados em resina acrílica autopolimerizável (Ortoclass, Artigos Odontológicos Clássico, Brasil), com retenções nas faces interproximais palatinas. Quatro nichos foram preparados na superfície palatina dos aparelhos, sendo dois do lado direito e dois do esquerdo, para a fixação de dois espécimes de esmalte e dois de dentina (Figura 1).

OBTENÇÃO DOS FRAGMENTOS DE ESMALTE E DENTINA

Foram confeccionados 28 espécimes de esmalte e 28 de dentina. Inicialmente, molares decíduos, recentemente esfoliados ou extraídos, adquiridos no Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto- USP (Anexo C) foram armazenados em timol a 0,1% a 4°C durante 48 horas para desinfecção e fixação (Domicini *et al.*, 2001). Em seguida foram limpos com curetas periodontais (Gracey, Duflex, Brasil) e submetidos à profilaxia com pedra pomes e água, aplicada com escovas tipo Robinson, montadas em baixa rotação (Intramatic 2068, Kavo do Brasil Ind. Com. LTDA., Brasil).

Com auxílio de uma lupa estereoscópica (Axiostar plus, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 20 vezes, os dentes foram analisados, sendo descartados os que possuíam trincas ou anomalias de estrutura que poderiam comprometer os resultados do estudo.

As raízes, quando presentes, foram removidas, em máquina de corte (Isomet 5000, Buehler, Alemanha), a 125 rpm, sob refrigeração a água, no limite da junção amelocementário. As coroas foram seccionadas no sentido mésio-distal, de forma a resultar em um fragmento vestibular e um lingual (Figura 1).

Os fragmentos obtidos foram seccionados nas dimensões de 3 x 3 x 2 mm. Em seguida, foram esterilizados em microondas (Viana *et al.*, 2010) e incluídos em resina epóxica (Epoxicure, Buehler, EUA).

Os corpos de prova foram planificados e polidos em politriz giratória (Politriz DP-9U2; Struers A/S, Dinamarca) sob refrigeração, com lixas abrasivas de oxido de alumínio (Jethol, Norton, Brasil) nas granulações 600 e 1200 e suspensão de alumina (Micropolish II, Buehler, EUA) 0,3 µm em disco de feltro (Polishing Cloth, Buehler, EUA). Em seguida, foram levados a cuba ultrassônica (Cleaner, Odontobrás, Brasil), por 10 minutos, para remoção de resíduos do polimento e depois armazenados a 4 °C, em umidade relativa.

AVALIAÇÃO DE MICRODUREZA

Com o intuito de padronizar os espécimes utilizados, estes foram avaliados quanto a sua microdureza Knoop. Para tal, foi utilizado o microdurômetro (HMV-2, Shimadzu Corp, Japão) e penetrador Knoop com carga estática de 25 g e tempo de aplicação de 30 s. Os corpos de prova foram posicionados em lâminas de vidro, com paralelômetro (ElQuip, Brasil), e levados ao microdurômetro para realização de três indentações, separadas entre si por uma distância de 100 μm , na região central de cada espécime, respeitando o espaçamento de 500 μm das bordas superior e inferior. Após as mensurações, foram selecionados 28 espécimes de esmalte e 28 de dentina, com valores de microdureza entre $\pm 10\%$ da média geral e foram armazenados em umidade relativa a 4°C.

Os espécimes foram delimitados com resina composta fotopolimerizável (Z350, 3M ESP, Brasil) sem condicionamento ácido e sem aplicação do sistema adesivo (Amaechi e Highmam, 2001), de modo que a área exposta ao tratamento foi de 3,0 x 1 mm, obtendo-se uma área hígida que serviu como referência para a avaliação perfilométrica (Figura 1).

ANÁLISE MORFOLÓGICA

Foram obtidas imagens de todos os espécimes com auxílio de microscópio Confocal a laser (Olympus LEXT OLS4000®, Olympus Corp, Japão), empregando uma objetiva de 20x, obtendo um aumento final de 460x. Para análise da superfície foram utilizadas as duas imagens obtidas, 2D e 3D, nas quais pôde-se observar a topografia de cada espécime.

ANÁLISE DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL

As mesmas imagens obtidas para a análise morfológica foram utilizadas para a análise da rugosidade superficial. Foram realizadas dez mensurações lineares, com cut-off de 80 μm , na área exposta inicial para fins comparativos do próprio espécime ao final do experimento. Os valores médios da rugosidade (R_a) foram transformados em μm por meio

de *software* específico do equipamento confocal *laser* (Olympus LEXT OLS4000®, Olympus Corp, Japão).

FASE INTRABUCAL

De acordo com sorteio para cada voluntário, dos lados direito e esquerdo do dispositivo palatino fixou-se dois espécimes de esmalte e dois de dentina, com cera para escultura (Kota Ind. Com. Ltda, Brasil), evitando-se a contaminação da superfície. Os corpos de prova foram posicionados 1 mm abaixo da superfície palatina do dispositivo a fim de prevenir processos de desgaste abrasivo pela língua (Hara *et al.*, 2006).

A adaptação intrabucal dos aparelhos foi verificada e os ajustes necessários foram realizados. Os 14 participantes foram instruídos a utilizar o dentifrício fluoretado (Colgate Máxima Proteção Anti-cáries, Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda, Brasil) e uma escova dental (Colgate Deep Clean, Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda, Brasil) fornecidos pelos pesquisadores durante o período de *lead-in* de 1 dia (Attin *et al.*, 2001), e durante os 5 dias de experimento.

O protocolo de exposição adotado foi baseado na frequência usual de ingestão de medicamento: 5 ml, três vezes ao dia, durante pelo menos 5 dias. O período experimental de 5 dias foi escolhido para simular o que aconteceria durante um tratamento breve. O aparelho foi removido da cavidade bucal as 8h, 12h e 17h para ser exposto, *ex vivo*, a 5 ml de Sulfato de Salbutamol (EMS S/A, Brasil) por 1 min, com o auxílio de uma seringa descartável, somente no lado do aparelho sorteado e identificado para cada participante (Figura 2). O fragmento do lado contralateral do dispositivo palatino não foi submetido ao desafio erosivo. Em seguida, o resíduo de medicamento nos espécimes foi cuidadosamente lavado em água corrente por 30 s, sem contaminar o Controle (Attin *et al.*, 2001) e o aparelho reinserido na boca.

A utilização do aparelho foi contínua durante dia e noite, exceto durante as refeições, consumo de quaisquer bebidas ou procedimentos de higiene bucal (West *et al.*, 1998).

Figura 1 – Fluxograma do preparo dos espécimes de esmalte e dentina de dentes decíduos, avaliação inicial em microdurômetro e em microscópio confocal laser (morfologia e rugosidade).

Figura 2 – Fluxograma da confecção e montagem do dispositivo palatino, aplicação do medicamento *ex vivo*, avaliação final da morfologia, rugosidade, perfil de desgaste e microdureza Knoop.

ANÁLISE MORFOLÓGICA FINAL

Após os 5 dias de exposições ao medicamento, foram obtidas novas imagens 2D e 3D com microscópio confocal das superfícies dos espécimes (exposta ou Controle), como descrito anteriormente.

ANÁLISE DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL FINAL

As mesmas imagens obtidas para morfologia foram utilizadas para a análise da rugosidade superficial. Foram realizadas 10 mensurações lineares, com cut-off de 80 μm , na área exposta/erodida em todos os espécimes de esmalte e dentina ao final do experimento. Os valores médios da rugosidade (Ra) foram transformados em μm por meio de software específico do equipamento confocal *laser* (Olympus LEXT OLS4000®).

ANÁLISE DO PERFIL DE DESGASTE

Após remover o isolamento de resina fotopolimerizada com auxílio de uma lâmina de bisturi, foram realizadas 10 leituras no microscópio confocal a *laser* (Olympus LEXT OLS4000®, Olympus Corp, Japão), com a lente de 20x sobre a área hígida Controle e a área exposta/erodida. A determinação do perfil de desgaste foi obtida pela distância em micrometros entre a linha média do gráfico (referente à área hígida) e a linha de desgaste (área exposta/erodida). Os dados obtidos em Rv foram transformados em μm , por meio de software específico do equipamento (Heurich *et al.*, 2010). Foi realizada a média por espécime para ser empregada na análise dos dados.

AVALIAÇÃO DE MICRODUREZA FINAL

A microdureza (KNH) das superfícies expostas de todos os espécimes de esmalte e dentina foi mensurada com cargas de 10 a 25 g por 30 s. Foram realizadas três indentações, separadas entre si por uma distância de 100 µm, na região central da área exposta/erodia de cada espécime e determinou-se a média para a análise dos dados.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o teste não paramétrico de Friedman, indicado para experimentos com pequenas amostras (Campos, 1983), respeitando o delineamento em blocos completos casualizados e considerando cada voluntário um bloco. O software utilizado foi o STATA 9.0 (Stata Corporation, USA).

Resultados

RESULTADOS

Os resultados foram analisados pelo teste de Friedman, utilizando a mediana da diferença da média dos valores finais e iniciais para todas as variáveis de resposta quantitativas.

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA

A análise qualitativa da morfologia de todas as superfícies (n=14) de esmalte (Figura 3) e dentina (Figura 4) expostas ao medicamento observou-se erosão, evidenciada pela exposição dos prismas de esmalte e pela exposição e ampliação das embocaduras dos túbulos dentinários. O esmalte e dentina do grupo Controle permaneceram intactos e a dentina mostrou diminuição no número de túbulos, sugerindo obliteração mineral pela saliva.

AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE

A média da rugosidade superficial inicial para o esmalte foi 0,064 μm e para a dentina foi 0,182 μm . A tabela 1 mostra as medianas, médias e desvio padrão (DP) da diferença dos valores finais-iniciais obtidos para a variável rugosidade. A mediana da diferença inicial-final da rugosidade do esmalte do grupo Salbutamol foi 0,0118 μm e para o esmalte Controle foi 0,0037 μm , portanto a rugosidade do esmalte exposto ao medicamento aumentou significativamente ($p=0,0325$) em relação ao Controle. A mediana da diferença da rugosidade da dentina do grupo Salbutamol foi 0,0082 μm e para a dentina do Controle foi -0,0071 μm , portanto na dentina exposta ao Sulfato de Salbutamol não foi observada alteração significativa da rugosidade superficial ($p=0,593$), como mostra o gráfico box plot (Figura 5).

Figura 3. Imagem de microscopia confocal da superfície do esmalte decíduo. **A** - Esmalte hígido no *baseline* (460X). **B** - Após exposição ao Sulfato de Salbutamol, notam-se dois padrões de desmineralização central e periférica (expondo a cabeça do prisma). **C** - Esmalte hígido Controle no *baseline*. **D** - Controle final – nenhuma alteração morfológica.

Figura 4. Imagem de microscopia confocal da superfície de dentina decídua (460X). **A** – Dentina hígida no *baseline*. **B** - Após exposição ao Sulfato de Salbutamol; nota-se pequena desmineralização da dentina peritubular (seta preta) e preservação da matriz colágena (seta branca). **C** – Dentina hígida Controle no *baseline*. **D** – Dentina Controle final; nota-se diminuição do número de túbulos dentinários.

Tabela 1. Média, desvio padrão (DP) e mediana para a diferença final-inicial dos valores de rugosidade da superfície (μm) do esmalte e dentina decíduos ($n=14$).

	Esmalte			Dentina		
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana
Controle	-0,0017	0,019	0,0037 ^a	-0,0693	0,2554	-0,0071 ^a
Salbutamol	0,0200	0,022	0,0118 ^b	0,0206	0,0533	0,0082 ^a

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p=0,0325$ para o esmalte; $p=0,593$ para a dentina)

Figura 4. Valores da diferença final-inicial de rugosidade do esmalte decíduo.

A extremidade superior de cada box plot indica o primeiro quartil e a extremidade inferior indica o terceiro quartil. A linha central indica a mediana ($n=14$).

ANÁLISE DO PERFIL DE DESGASTE

A tabela 3 mostra as medianas, médias e desvio padrão da diferença dos valores finais-iniciais obtidos para a variável perfil de desgaste.

A mediana da diferença inicial-final do perfil de desgaste do esmalte do grupo Salbutamol foi $0,3145 \mu\text{m}$ e para o esmalte Controle foi $0,2465 \mu\text{m}$, portanto o perfil de desgaste do esmalte exposto ao medicamento aumentou significativamente ($p=0,03251$). A mediana da diferença do perfil de desgaste da dentina do grupo Salbutamol foi $0,6005 \mu\text{m}$ e para a dentina do Controle foi $0,4640 \mu\text{m}$, portanto na dentina decídua exposta ao Sulfato de

Salbutamol não foi observada alteração significativa do perfil de desgaste ($p=0,285$), como mostra o gráfico box plot (Figura 6).

Tabela 3. Média, desvio padrão (DP) e mediana para a diferença dos valores de perfil de desgaste (μm) entre os espécimes Controle e Sulfato de Salbutamol no esmalte e dentina de dentes decíduos ($n=14$).

	Esmalte			Dentina		
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana
Controle	0,2704	0,1252	0,2465 ^a	0,5090	0,1903	0,4640 ^a
Salbutamol	0,3412	0,1105	0,3145 ^b	0,6097	0,1602	0,6005 ^a

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p=0,03251$ para o esmalte e $p=0,285$ para a dentina)

Figura 5. Valores do perfil de desgaste do esmalte e dentina de dentes decíduos no período final do experimento ($n=14$).

AVALIAÇÃO DE MICRODUREZA

A mediana da diferença inicial-final da microdureza da superfície do esmalte decíduo do grupo Salbutamol foi -45.50 KHN e para o esmalte Controle foi -2,33 KHN, portanto a microdureza do esmalte exposto ao medicamento reduziu significativamente ($p=0,0325$). A mediana da diferença inicial-final da microdureza da superfície de dentina do grupo

Salbutamol foi -9,38 KHN e para o esmalte Controle foi -2,85 KHN, portanto não houve redução significativa da microdureza da dentina exposta ao medicamento ($p=0,1088$), como mostra a tabela 4.

Tabela 4. Média, desvio padrão (DP) e mediana da diferença final-inicial dos valores de Microdureza Knoop do esmalte e dentina de dentes decíduos.

	Esmalte			Dentina		
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana
Controle	-5,38	36,36	-2,33 ^a	-7,21	14,98	-2,85 ^a
Salbutamol	-78,54	77,27	-45,50 ^b	-10,49	8,37	-9,38 ^a

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p=0,0325$ para o esmalte; $p=0,1088$ para a dentina)

Figura 6. Valores da diferença final-inicial de microdureza Knoop do esmalte e dentina decíduo ($n=14$).

Discussão

DISCUSSÃO

A erosão dental é definida como um processo multifatorial que envolve aspectos protetores e de risco (Lussi, 2006; Lussi e Jaeggi, 2008). Neste contexto, os mecanismos salivares de proteção são considerados os fatores biológicos mais importantes durante o desafio erosivo (Hara *et al.*, 2006).

Modelos *in situ* são particularmente adequados para avaliar a erosão causada por bebidas e potenciais agentes protetores, pois permitem que todo o processo de erosão seja monitorado ao longo do tempo, em um ambiente mais próximo do natural, com saliva, película adquirida e higiene oral rotineira (Amaechi, 2001). Por isso, podem ser considerados modelos válidos para avaliar a ação de medicamentos orais líquidos na estrutura dental. Entretanto, podem apresentar variabilidade devido aos diferentes fatores químicos, biológicos e comportamentais de cada indivíduo, que envolvem características salivares e também particularidades de cada elemento e substrato dental (Lussi, 2006). Com o intuito de reduzir a variabilidade experimental inerente aos substratos, os espécimes de esmalte e de dentina humanos decíduos foram selecionados inicialmente pela ausência de trincas e manchas, também foram descartados os que diferiram mais de 10% da média dos valores de microdureza.

Para minimizar variações, além da criteriosa seleção dos espécimes, cada voluntário foi considerado um bloco do ponto de vista estatístico, em um delineamento em blocos completos casualizados. Com este delineamento, cada um dos 14 voluntários recebeu os 2 tratamentos, Sulfato de Salbutamol e Controle, em um mesmo período. Neste experimento *in situ*, optou-se pelo delineamento em *split mouth*, ao invés de um delineamento *cross over*, que implicaria em um estudo com 2 períodos experimentais, além da inclusão de períodos de *run in* e *wash out* (Senn, 1993). Caso o experimento fosse totalmente aleatório (Montgomery, 1984) os 14 voluntários seriam divididos em 2 grupos, em um único período, e assim o número de amostra (n) seria 7, implicando em menor número de repetições e maior

variação experimental, já que no delineamento totalmente aleatório o voluntário não seria um bloco completo.

Outros cuidados neste delineamento *split mouth* foram aleatorizar as amostras previamente à fixação nos dispositivos palatinos de cada voluntário e sortear o lado do dispositivo palatino (esquerdo e direito) no qual seria feito a aplicação do medicamento. Para não haver contaminação dos espécimes Controle, o lado que receberia o medicamento foi identificado no dispositivo e a aplicação foi realizada *ex vivo* (Turssi *et al.*, 2004).

Estudos *in situ* necessitam da cooperação dos voluntários e para proporcionar conforto aos participantes desse estudo foram confeccionados dispositivos palatinos que eram removidos para comer, beber e fazer higiene bucal. Para a obtenção de um modelo mais realista para erosão, estes aparelhos foram usados durante toda a noite, pois no período do sono, os espécimes expostos ao meio bucal com saliva natural incorporam os possíveis efeitos benéficos de remineralização (Laheij *et al.*, 2010).

O medicamento avaliado, Sulfato de Salbutamol, tem pH 3,6 (Scatena *et al.*, 2014), abaixo do crítico para dissolução do esmalte (pH 5,5) e que na presença de fluoretos seria de 4,5 (Dawes, 2003). Na presente pesquisa, observamos que as superfícies de esmalte decíduo expostas ao medicamento apresentaram uma diminuição significativa na microdureza Knoop, aumento na rugosidade e no perfil de desgaste, mesmo na presença de flúor, uma vez que todos os voluntários residem em cidade com água fluoretada e utilizaram o dentífrico padronizado com 1450 ppm de flúor (MFP). O efeito erosivo encontrado corrobora estudos prévios *in vitro* que demonstraram que medicamentos ácidos podem reduzir a microdureza do esmalte de dentes decíduos (Costa *et al.*, 2006; Maguire *et al.*, 2007; Scatena *et al.*, 2014), influenciar a rugosidade superficial do esmalte bovino (Valinoti *et al.*, 2011) e causar alterações morfológicas no esmalte decíduo (Costa *et al.*, 2006; Scatena *et al.*, 2014). O efeito erosivo do Sulfato de Salbutamol pode ser explicado em função do baixo pH, da presença de ácido cítrico, alta acidez titulável, baixa capacidade tampão e presença de álcool etílico na formulação (Scatena *et al.*, 2014).

Até o momento, não há na literatura estudos *in situ* sobre erosão dental relacionada a medicamentos. A expectativa neste estudo era que o efeito erosivo causado pelo Sulfato de Salbutamol fosse menor do que *in vitro*, devido à presença de fluoreto, saliva, película adquirida, e mesmo biofilme (Hara *et al.*, 2006), uma vez que os espécimes não foram escovados para evitar a abrasão. Também não houve desafio abrasivo nas superfícies submetidas ao desafio erosivo, pois se desejava conhecer a ação isolada do medicamento para posteriormente estudar a interação com a escovação.

A avaliação da erosão da superfície dental por meio de microdureza é o método mais útil e consagrado para verificar o amolecimento do esmalte (Shellis *et al.*, 2011). Embora pudesse ser utilizado um indentador Vickers para avaliar a microdureza, foi empregado um indentador Knoop, que é mais sensível e devido a menor proporção profundidade/comprimento tende a penetrar menos profundamente no tecido amolecido. Também se avaliou a perfilometria (rugosidade e perfil de desgaste) e a morfologia superficial em microscópio confocal *laser* 3D. De acordo com Barbour e Rees (2006), a microdureza é um método simples e confiável para observar estágios iniciais de erosão dental, enquanto a perfilometria seria mais adequada para avaliar estágios mais avançados. Atualmente, a perfilometria é o método mais comumente utilizado para verificar erosão de esmalte e dentina (Schlueter *et al.*, 2011). O desgaste dental pode ser quantificado de forma rápida e precisa pela perfilometria *laser* confocal (Heurich *et al.*, 2010) e sem risco de sulcar ou alterar a superfície amolecida do substrato erodido com a força de contato da ponta, como ocorre na perfilometria de contato (Barbour e Rees, 2004). A decisão de usar ambos os métodos foi relacionada ao uso de diferentes substratos, esmalte e dentina, com diferentes susceptibilidades à erosão (Scaramucci *et al.*, 2011).

As superfícies de esmalte decíduo expostas ao medicamento mostraram alteração da rugosidade superficial, mostrando seu efeito erosivo, assim como foi evidenciado por Valinoti *et al.* (2011) que testaram outros medicamentos pediátricos no esmalte bovino. Para a dentina decídua, não foi constatada alteração da rugosidade superficial com os parâmetros utilizados neste estudo.

A geração de imagens 3D, com o microscópio confocal, possibilitou a avaliação topográfica das superfícies de esmalte e dentina. Nas imagens observou-se desmineralização das superfícies do esmalte, com exposição de prismas nos espécimes que receberam o tratamento com o medicamento; e nos espécimes Controle as superfícies permaneceram intactas. Apesar do efeito protetor da saliva e do biofilme dental no estudo *in situ*, o Sulfato de Salbutamol apresentou efeito erosivo no esmalte de dentes decíduos, corroborando os resultados encontrados *in vitro* previamente (Scatena *et al.*, 2014).

A microscopia confocal 3D é um excelente método de análise da superfície erodida, pois além de proporcionar uma imagem da topografia do substrato dental, é um método não destrutivo e possibilita reavaliar o mesmo corpo de prova ao longo do experimento. É uma técnica que não necessita de desidratação e metalização, como ocorre com a Microscopia Eletrônica de Varredura, o que simplifica o processo e diminui possíveis falhas (Paepegaey *et al.*, 2013).

As amostras de dentina que receberam o tratamento mostraram desmineralização peritubular e exposição da matriz colágena. Nas amostras Controle, notou-se uma diminuição no número de túbulos dentinários, provavelmente devido à ação remineralizante da saliva (Barbour *et al.*, 2006), que pode ter obliterado alguns túbulos com seus minerais.

Para o substrato dentinário não houve diferença significativa no perfil de desgaste, rugosidade e na microdureza das superfícies de dentina expostas ao medicamento. Apesar de esse resultado sugerir que o medicamento não cause erosão na dentina de dentes decíduos, sua interpretação exige compreensão da complexa estrutura da dentina e sua interação com a película adquirida.

Tem sido especulado que a saliva penetra no sistema de túbulos dentinários e produz não somente uma película, mas também um menisco de líquido viscoso no orifício dos túbulos (Wetton *et al.*, 2006) que poderia proteger a dentina contra a erosão e explicar o resultado do presente estudo. Outra hipótese seria que a erosão causa uma desmineralização da dentina que expõe sua matriz colágena, seguida de uma zona parcialmente desmineralizada, e abaixo dela a dentina sadia (Ganss *et al.*, 2001, 2004).

Essa matriz de colágeno age como uma barreira de difusão e pode retardar ou controlar a desmineralização (Ganss *et al.*, 2004, 2007). Ganss *et al* (2009) mostraram que a matriz orgânica de dentina desmineralizada também é extremamente resistente aos impactos mecânicos, resistindo a uma força de 2 N. No entanto, essa barreira pode ser parcialmente removida por desafios abrasivos, como a escovação logo após o desafio erosivo (Passos *et al.*, 2013). No presente estudo a escovação não foi realizada nos espécimes para evitar a abrasão, e isso pode ter contribuído para manter a matriz colágena na dentina desmineralizada e, assim, ter controlado a erosão da dentina.

Considerando os resultados de microdureza, rugosidade e perfil de desgaste não alterados da dentina exposta ao medicamento, em estudos posteriores essa avaliação poderia ser feita com outro método, como a microrradiografia, pois os resultados do efeito erosivo não são afetados pela matriz orgânica, devido à absorção de raio-X ser insignificante (Schlueter *et al.*, 2011). É provável que em tratamentos mais longos com o Sulfato de Salbutamol fossem observados graus mais severos de erosão no esmalte e na dentina dos dentes decíduos. Sendo assim, são necessários mais estudos para melhor compreender a ação desse medicamento nos tecidos dentais.

Pesquisas em dentes decíduos são de relevância científica, porque têm sido observadas diferenças estruturais e morfológicas entre substratos decíduos e permanentes (Sonju *et al.*, 1997; de Menezes Oliveira *et al.*, 2010). Além disso, foram relatadas diferenças na composição química e ultra-estruturais e na formação da película adquirida entre dentes decíduos e permanentes (Sonju *et al.*, 1997).

O conhecimento do potencial erosivo de medicamentos rotineiramente usados é fundamental. A erosão dental em crianças pode estar associada à hipersensibilidade dentária, perda da dimensão vertical, dificuldades para mastigação, estética insatisfatória e, em casos extremos, exposição pulpar (Nunn *et al.*, 2001). O diagnóstico precoce pode prevenir lesões aos dentes permanentes.

Portanto, considerando os resultados deste estudo, os profissionais da saúde, devem estar cientes do risco de erosão dental durante o uso de medicamentos antiasmáticos por

crianças e mais estudos devem ser feitos para elucidar o efeito do Sulfato de Salbutamol clinicamente em dentes decíduos.

Conclusão

CONCLUSÃO

Considerando o modelo experimental adotado e os dados obtidos nesse estudo *in situ*, pode-se concluir que:

- O Sulfato de Salbutamol teve efeito erosivo na morfologia das superfícies de esmalte e de dentina de dentes decíduos.
- O efeito erosivo do medicamento foi constatado pela microdureza Knoop, rugosidade e perfil de desgaste apenas nas superfícies de esmalte de dentes decíduos.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion *in vitro*: enamel type, temperature and exposure time. J Oral Rehabil. 1999; 26(8):624-630.
2. Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. Arch Oral Biol. 2001; 46: 697–703.
3. Amaechi BT, Higham SM. *In vitro* remineralization of eroded enamel lesions by saliva. J Dent. 2001;29:371-376.
4. Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. Caries Res. 2001;35:216–222.
5. Babu KL, Rai K, Hedge AM. Pediatric liquid medicaments - do they erode the teeth surface? An *in vitro* study: part I. J Clin Pediatr Dent. 2008; 32(3):189-194.
6. Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. J Dent. 2004; 32(8):591-602.
7. Barbour ME, Rees GD. The role of erosion, abrasion and attrition in tooth wear. J Clin Dent. 2006;17:88–94.
8. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ *et al*. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. Eur Respir J. 2008; 31:143–178.
9. Bradley MB, Kinirons MJ. Choice of sugar-free medicines by a sample of dentists, doctors and pharmacists in Northern Ireland: the views of parents and health professionals. Community Dent Health. 1998; 15:105-108.
10. Campos H. Estatística experimental não paramétrica. Ed. ESALQ, 1983.
11. ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion,summary. Eur J Oral Sci. 1996;104(2):241-244.
12. Costa CC, Almeida ICS, Costa LC Filho. Erosive effect of antihistamine-containing syrup on primary enamel and its reduction by fluoride dentifrice. Int J Paediatr Dent. 2006;16:174-180.

13. Costa CC, Almeida IC, da Costa Filho LC, Oshima HM. Morphology evaluation of primary enamel exposed to antihistamine and fluoride dentifrice – an *in vitro* study. *Gen Dent*. 2006; 54: 21–27.
14. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J C Dent Assoc*. 2003;69:722–4.
15. Durward C, Thou T. Dental caries and sugar containing liquid medicines for children in New Zealand. *N Z Dent J* 1997; 93:124-129.
16. Feigal RJ, Gleeson MC, Beckman TM, Greenwood ME. Dental caries related to liquid medication intake in young cardiac patients. *J Dent Child* 1984;51:360-2.
17. Fleming P, Kinirons MJ. Dental health of children suffering from acute lymphoblastic leukaemia. *J Paed Dent* 1986;2:1-5.
18. 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;29:264–271.
19. Ganss C, Klimek J, Starck C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Arch Oral Biol*. 2004; 49(11):931-935.
20. Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J. Effects of toothbrushing on eroded dentine. *Eur J Oral Sci*. 2007; 115(5):390-396.
21. 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):422-429.
22. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: Effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res* 2011;45:581-589.
23. Giunta JL. Dental erosion resulting from chewable vitamin C tablets. *J Am Dent Ass* 1983; 107: 253–255.
24. 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.

25. Hara A T, Lussi A, Zero D T. Biological factors. Monographs in Oral Science 2006; 20: 88-99.
26. Hellwig E, Lussi A. Oral hygiene products and acidic medicines. Monogr Oral Sci 2006; 20: 112–118.
27. Heurich E, Beyer M, Jandt KD, Reichert J, Herold V, Schnabelrauch M, Sigusch BW. Quantification of dental erosion - a comparison of stylus profilometry and confocal *laser* scanning microscopy (CLSM). Dent Mater. 2010 Apr;26(4):326-36.
28. Imfeld T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. Eur J Oral Sci. 1996 ;104(2):215-20.
29. Laheij AM, van Strijp AJ, van Loveren C. *In situ* remineralization of enamel and dentin after the use of an amine fluoride mouth rinse in addition to twice daily brushings with amine fluoride toothpaste. Caries Res. 2010;44(3):260-6.
30. Linnett V. Seow WK. Dental erosion in children: a literature review. Pediatric dentistry. 2001; 23: 37-43.
31. Luo A, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R. The prevalence of dental erosion in preschool children in China. J Dent 2005;33:115–121.
32. Lussi A, Jaggi T, Scharer S. The influence of different factors on *in vitro* enamel erosion. Caries Res 1993; 27: 387–393.
33. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an *in vitro* model. European Journal of Oral Sciences 2000;108:110–114.
34. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. Caries Res. 2004;38 (1):34-44. Review.
35. Lussi A. Dental erosion: from diagnosis to therapy. Monographs in oral science. 2006 (20).
36. Lussi A, Jaeggi T. Erosion – diagnosis and risk factors. Clin Oral Invest. 2008;12 (1):5-13
37. Maguire A, Baqir W, Nunn JH. Are sugars-free medicines more erosive than sugars-containing medicines? An *in vitro* study of paediatric medicines with prolonged oral clearance used regularly and long-term by children. Int J Paediatr Dent. 2007;17(4):231-238.

38. Maguire A, Rugg-Gunn AJ. Prevalence of long-term use of liquid oral medicines by children in the northern region, England. *Community Dent Health* 1994; 11:91-96.
39. de Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech*. 2010;73(5):572-577.
40. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. 1984.
41. Nixon PJ, Youngson CC, Beese A. Tooth surface loss: does recreational drug use contribute? *Clin Oral Investig*. 2002;6(2):128-130.
42. Nunn JH, Ng SK, Sharkey I, Coulthard M. The dental implications of chronic use of acidic medicines in medically compromised children. *Pharm World Sci*. 2001; 23(3):118-119.
43. Paepegaey AM, Barker ML, Bartlett DW, Mistry M, West NX, Hellin N, Brown LJ, Bellamy PG. Measuring enamel erosion: a comparative study of contact profilometry, non-contact profilometry and confocal *laser* scanning microscopy. *Dent Mater*. 2013; 29(12):1265-72.
44. 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):178-183.
45. Rugg-Gunn AJ, Maguire A, Gordon PH, McCabe JF, Stephenson G. Comparison of erosion of dental enamel by four drinks using an intra-oral appliance. *Caries Res* 1998; 32: 337–343.
46. Ryberg M, Möller C, Ericson T. Saliva composition and caries development in asthmatic patients treated with beta 2-adrenoceptor agonists: a 4-year follow-up study. *Scand J Dent Res* 1991; 99: 212–218.
47. Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MA. *In vitro* evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent*. 2011 Dec;39(12):841-8.
48. Scatena C, Galafassi D, Gomes-Silva JM, Borsatto MC, Serra MC. *In vitro* erosive effect of pediatric medicines on deciduous tooth enamel. *Braz Dent J*. 2014 ;25(1):22-27.
49. Senn S. Cross-over trials in clinical research. Ed. John Wiley & Sons Ltd., Inglaterra, 1993.

50. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res.* 2011;45 (1):13-23.
51. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45 (1):69-77.
52. Sullivan RE, Kramer WS. Iatrogenic erosion of teeth. *J Dent Child* 1983; 50: 192–196.
53. Shaw L, al-Dlaigan YH, Smith A. Childhood asthma and dental erosion. *ASDC J Dent Child.* 2000;67(2):102-106.
54. Taji S, Seow WK. A literature review of dental erosion in children. *Aust Dent J.* 2010; 55(4):358-367.
55. Turssi CP, Faraoni JJ, Rodrigues Jr AL, Serra MC. An *in situ* investigation into the abrasion of eroded dental hard tissues by a whitening dentifrice. *Caries Res.* 2004 ;38(5):473-477.
56. Valinoti AC, Neves BG, da Silva EM, Maia LC. Surface degradation of composite resins by acidic medicines and pH-cycling. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(4):257-65.
57. Valinoti AC, Pierro VSS, Silva EM, Maia LC. *In vitro* alterations in dental enamel exposed to acidic medicines. *Int J Paediatr Dent.* 2011; 21(2):141-150.
58. Viana PS, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization processes. *Caries Res.* 2010;44(4):349-357.
59. West NX, Maxwell A, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. *J Dent.* 1998; 26(4):329-35.
60. Wetton S, Hughes J, West N, Addy M. Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study *in vitro*. *Caries Res.* 2006; 40(3):213-7.
61. Wiegand A, Begic M, Attin T. *In vitro* evaluation of abrasion of eroded enamel by different manual, power and sonic toothbrushes. *Caries Res.* 2006; 40:60–65.
62. Yu H, Wegehaupt FJ, Wiegand A, Roos M, Attin T, Buchalla W. *J Dent.* 2009; 37(12):913-922.

63. Zero DT. Etiology of dental erosion: extrinsic factors. Eur J Oral Sci. 1996;104:162–177.

Anexo A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO/ FORP/ USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo in situ do efeito de solução neutralizante e/ou remineralizante em dente decíduo após exposição a medicamento antiasmático potencialmente erosivo

Pesquisador: CAMILA SCATENA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 15384613.2.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior ((CAPES))
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ((CNPq))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 250.343

Data da Relatoria: 18/04/2013

Apresentação do Projeto:

O uso prolongado de medicamentos ácidos na cavidade bucal de crianças com desordens crônicas causam preocupação, devido ao risco de erosão dental que o baixo pH do medicamento potencialmente erosivo possui. O objetivo deste estudo é avaliar, in situ, o efeito preventivo das soluções de bicarbonato de sódio e fluoreto de sódio, no esmalte e dentina de dentes decíduos após desafio ácido com um medicamento antiasmático de uso prolongado. Inicialmente, 84 molares decíduos, serão seccionados, de forma a obter fragmento de esmalte e um de dentina (3 x 3 x 2 mm) da porção coronária. Os espécimes serão planificados e polidos em poltriz giratória sob refrigeração para serem avaliados quanto a sua microdureza Knoop. Os espécimes serão delimitados com resina composta, de modo que a porção exposta ao tratamento será de 3 x 3 mm, obtendo-se uma área hígida que servirá de referência para a avaliação perfilométrica. Os espécimes serão esterilizados em microondas e inspecionados. Cinquenta e seis fragmentos de esmalte e dentina serão selecionados e armazenados. Quatorze voluntários usarão dispositivos palatinos individualizados, contendo um fragmento de dentina e um de esmalte de cada lado do dispositivo, posicionados 1 mm abaixo da superfície. Na primeira fase do experimento, após o lead-in de 2 dias, os voluntários realizarão o desafio erosivo três vezes ao dia (8h, 14h e 18h) por 5 dias consecutivos, removendo o dispositivo da cavidade bucal e gotejado com 5 ml de Sulfato de Salbutamol, somente um lado do aparelho, por 1 min. Os fragmentos do lado contralateral do

Anexo A – Continuação

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO/ FORP/ USP

dispositivo palatino não serão submetidos ao desafio e oslúo. Em seguida, o excesso de medicamento será lavado em água corrente e o aparelho retirado da boca. Após o término da primeira fase, os espécimes serão removidos dos aparelhos e em período de wait-out de 7 dias será aguardado. Havendo constatação da erosão nos fragmentos, novos espécimes serão posicionados nas placas palatinas e os voluntários liberados a segunda fase do experimento. Na segunda fase, os mesmos procedimentos descritos na primeira fase serão realizados e imediatamente após cada desafio e oslúo, os voluntários realizarão enxágue bucal, durante 1 min, com 15 ml de solução de bicarbonato de sódio ou 30 s com 15 ml de enxágue bucal flavorizado, sem álcool (Colgate Plax®, 225 ppm NaF). Após o término da segunda fase, os espécimes serão removidos dos aparelhos e novos espécimes serão posicionados nas placas palatinas durante o período de wait-out de 7 dias. Na terceira fase os voluntários realizarão o mesmo protocolo da segunda fase, utilizando a solução alternativa para enxágue bucal, durante os 5 dias. Ao final do período experimental, a microdureza superficial dos fragmentos será aferida e a resina composta será removida a fim de expor as áreas de referência não submetidas aos tratamentos para a análise da profundidade de desgaste ser avaliada através de perfilômetro óptico. Uma região central (3 x 1 mm²) envolvendo ambas as áreas, exposta e não expostas (referências) ao ambiente bucal, será escafeada. A profundidade de desgaste será avaliada através de um software específico e calculada pela diferença em altura entre as áreas experimental e referências. A porcentagem de loss cálcio, fosfato e flúor será quantificada por Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) e a morfologia da superfície do substrato será avaliada por meio de microscopia eletrônica de varredura. Os resultados serão avaliados estatisticamente de acordo com a distribuição da amostra.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar quantitativamente, através de microdureza Knoop, o efeito protetor do remédio realizado in situ das soluções de tratamento após o desafio e oslúo ocasionado por medicamento antissmático, no esmalte e na dentina de dentes deciduos.

Avaliar quantitativamente o efeito in situ dos tratamentos para controle/prevenção do desafio e oslúo causado pelo medicamento, através de espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS), pela porcentagem de loss cálcio e flúor no esmalte e na dentina dos dentes deciduos no tempo final de exposição.

Avaliar qualitativamente, através da microscopia eletrônica de varredura, a morfologia superficial do esmalte e dentina de dentes deciduos, após os desafios ácidos com medicamento e os tratamentos para prevenção, no tempo final de exposição.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço: Avenida do Café s/nº
Bairro: Monte Alegre CEP: 14040-904
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3502-0251 Fax: (16)3502-4102 E-mail: cep@forp.usp.br

Anexo A – Continuação

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO/FORP/USP

Poderá existir um desconforto pelo uso do aparelho removível. O risco de desconforto será evitado pela construção do aparelho de forma mais adequada para cada participante, com quantos ajustes forem necessários para que fique confortável e não traumatize os tecidos bucal, de forma semelhante com o efeito com aparelhos removíveis na ortodontia. É importante esclarecer que um desconforto leve não causa riscos à saúde geral ou bucal. Caso ocorra algum desconforto, o participante poderá interromper imediatamente o uso do dispositivo.

Benefícios:

Benefícios indiretos, por meio de esclarecimento de certas questões relevantes para a Dentística. Como benefícios diretos, os voluntários receberão exame clínico bucal visual e tátil completo, avaliação do fluxo salivar e capacidade tampão da saliva e também ganharão um kit de higiene bucal com escova, de flúor e fio dental.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem embasada; justifica sua realização.

Os participantes da pesquisa serão quatorze voluntários, residentes em Ribeirão Preto, não universitários, com idade entre 18-35 anos, alunos de graduação e de pós-graduação que não tenham utilizado com o professor envolvido e nem com os pesquisadores. Serão recrutados, esclarecidos, com disponibilidade de tempo para comparecer à facilidade nos horários estipulados. O recrutamento espontâneo e aleatório realizado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto para este estudo. Após receberem todas as informações correspondentes à execução da pesquisa, os voluntários serão submetidos à avaliação e ao exame clínico, em que serão colocados critérios de inclusão e exclusão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequadamente construídos.

Recomendações:

Nada a declarar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Indicações:

Nada a declarar.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações finais a critério do CEP:

Conforme deliberado na 177ª Reunião do CEP/FORP, realizada em 18/04/2013.

RIBEIRÃO PRETO, 19 de Abril de 2013

Assinado por:
JOSÉ TARCÍSIO LIMA FERREIRA
(Coordenador)

Anexo B – Bula do Sulfato de Salbutamol

sulfato de salbutamol

FORMA FARMACÉUTICA E APRESENTAÇÃO

Solução oral. Frasco contendo 120 ml + copo medida.

USO ADULTO E PEDIÁTRICO
USO ORAL

COMPOSIÇÃO

Cada 5 ml da solução oral contém:

sulfato de salbutamol*	2,4 mg
veículo** q.s.p.	5 ml

* equivalente a 2 mg de salbutamol base.

** hietelose, sacarina sódica, propilparabeno, metilparabeno, hidróxido de sódio, essência de framboesa, corante vermelho ponceaux, ciclamato sódico, álcool etílico, ácido cítrico, água purificada.

INFORMAÇÕES AO PACIENTE

O sulfato de salbutamol é indicado no alívio do espasmo brônquico associado às crises de asma, bronquite crônica e enfisema.

Manter à temperatura ambiente (15°C a 30°C). Proteger da luz e manter em lugar seco.

O número de lote e as datas de fabricação e validade estão impressos no cartucho do medicamento. Não use o medicamento com o prazo de validade vencido. Antes de usar observe o aspecto do medicamento.

Informe seu médico a ocorrência de gravidez na vigência do tratamento ou após o seu término.

Informar ao médico se está amamentando.

Siga a orientação do seu médico, respeitando sempre os horários, as doses e a duração do tratamento.

Não interromper o tratamento sem o conhecimento do seu médico.

Informe seu médico o aparecimento de reações desagradáveis, tais como, tremores, dor de cabeça, câibra muscular, taquicardia.

TODO MEDICAMENTO DEVE SER MANTIDO FORA DO ALCANCE DAS CRIANÇAS.

O uso de sulfato de salbutamol é contraindicado em pacientes com hipersensibilidade conhecida a qualquer componente da fórmula.

Informe seu médico sobre qualquer medicamento que esteja usando, antes do início, ou durante o tratamento.

Não deve ser utilizado durante a gravidez e a lactação.

NÃO USE MEDICAMENTO SEM O CONHECIMENTO DO SEU MÉDICO. PODE SER PERIGOSO PARA A SAÚDE.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

Características: o nome químico do sulfato de salbutamol é 1-[(tert-butilamino)metil]-4-hidroxi-m-xileno-a,a'-diol sulfato. Sua fórmula molecular é $(C_{13}H_{21}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$ com peso molecular de 576,7. É um pó cristalino branco ou praticamente branco, livremente solúvel em água, e levemente solúvel em álcool, clorofórmio e éter.

O sulfato de salbutamol é um agonista seletivo dos adrenoreceptores β_2 . Em doses terapêuticas, atua nos adrenoreceptores β_2 da musculatura brônquica, com pouca ou quase nenhuma ação sobre os adrenoreceptores β_1 do músculo cardíaco. A ação principal das drogas beta-adrenérgicas é estimular a adenil ciclase, a enzima que cataliza a formação do AMP cíclico. No tratamento de doenças obstrutivas reversíveis do sistema respiratório, o sulfato de salbutamol pode também reduzir a liberação do mediador químico das células pulmonares e aumentar os mecanismos de transporte mucociliar.

A biodisponibilidade do sulfato de salbutamol após administração oral é de 50% a 85%. Sua ligação às proteínas plasmáticas é de 10%.

O volume de distribuição é em torno de 155 L/kg. Os homens apresentam um volume de distribuição maior que as mulheres. Sofre biotransformação hepática originando o sulfato fenólico. O salbutamol atravessa a barreira placentária e é excretado no leite materno.

Tanto a droga inalterada quanto seu conjugado são excretados principalmente pela urina, cerca de 64 a 98%. Em torno de 1,2 a 7% da droga são eliminados pelas fezes. Apresenta meia-vida de eliminação de 3 a 6,5 horas.

Indicações

Os broncodilatadores não devem ser o único ou principal tratamento em pacientes com asma severa ou instável. Asma severa requer orientação médica regular, já que pode ser fatal. Os pacientes com asma severa têm sintomas constantes e exacerbações frequentes, com capacidade física limitada, e valores de PEF abaixo de 60%. Estes pacientes irão necessitar de altas doses, por exemplo: >1mg/dia de dipropionato de beclometasona ou corticoterapia oral. Uma piora repentina dos sintomas pode requerer aumento na dosagem de corticosteroides, que devem ser administrados sob supervisão médica. O sulfato de salbutamol solução oral é indicado para alívio do broncoespasmo na asma brônquica de qualquer tipo, de bronquite crônica e enfisema. Seu uso é mais adequado para crianças ou para aqueles adultos que preferem medicamentos sob a forma líquida.

Contraindicações

O uso deste medicamento é contraindicado em pacientes com história de hipersensibilidade a qualquer componente de sua fórmula.

Não deve ser usado conjuntamente com substância de ação beta-bloqueadora, uma vez que o salbutamol é um estimulante beta-adrenérgico.

Não deve ser usado em ameaça de aborto, durante o primeiro ou segundo trimestre de gravidez.

Precauções e Advertências

O tratamento da asma deve ser acompanhado por um programa adequado, e a resposta do paciente deve ser monitorada clinicamente e por exames da função pulmonar.

O aumento do uso de agonistas de receptores β_2 na forma de inaladores de curta ação promoveu um agravamento da asma. Sob estas condições, o plano de terapia dos pacientes deve ser reavaliado. O agravamento repentino e progressivo do controle da asma é potencialmente uma ameaça à vida e considerações devem ser feitas para se iniciar ou aumentar a terapia com corticosteroides.

Em pacientes considerados em risco, deve ser instituído o monitoramento diário do pico de fluxo.

Os pacientes devem ser alertados para não aumentarem a dose ou a frequência de administração do sulfato de salbutamol solução oral, mesmo que o alívio usual ou a duração de ação diminuam. Caso isso ocorra, procurar orientação médica.

O salbutamol deve ser administrado cautelosamente a pacientes que sofrem de tireotoxicose.

Terapias com agonistas dos receptores β_2 podem resultar em hipocalcemia potencialmente séria, principalmente com administração parenteral ou por nebulização.

Precauções especiais devem ser utilizadas em casos de asma grave aguda, pois o efeito do salbutamol pode ser potencializado no tratamento concomitante com derivados da xantina, esteroides, diuréticos e pela hipóxia. Recomenda-se que os níveis de potássio no soro sejam monitorados em qualquer um destes casos.

Do mesmo modo que outros agonistas β_2 adrenérgicos, este medicamento pode induzir alterações metabólicas reversíveis como o aumento dos níveis de glicose sanguínea. O paciente diabético pode ser incapaz de compensar isto e tem sido relatado o desenvolvimento de cetoacidose. A administração concomitante de corticosteroides pode aumentar este efeito.

088742

Anexo B – Continuação

USO NA GRAVIDEZ E LACTAÇÃO: a administração de drogas durante a gravidez somente deve ser efetuada se o benefício esperado pela mãe for maior do que qualquer risco ao feto. Raramente foram relatadas anomalias congênitas, incluindo fenda palatina e defeitos nos membros, nos filhos de pacientes tratadas com salbutamol. Algumas das mães estavam tomando medicações múltiplas durante a gravidez. Devido à inconsistência do padrão dos defeitos e à razão para anormalidade congênita ser 2-3%, uma relação com o uso de salbutamol não pode ser estabelecida.

Como o salbutamol é secretado no leite materno, o uso em lactantes não é recomendado.

Não é conhecido qualquer efeito danoso que o salbutamol secretado no leite materno possa trazer ao neonato.

Interações medicamentosas

O salbutamol e os β -bloqueadores não seletivos, como o propranolol, não devem ser administrados concomitantemente, pois os β -bloqueadores podem inibir os efeitos terapêuticos do sulfato de salbutamol e vice-versa.

O salbutamol não está contraindicado em pacientes recebendo tratamentos com inibidores da monoaminoxidase (IMAOs). Mas deve ser administrado com extremo cuidado em pacientes em tratamento com estes medicamentos ou antidepressivos tricíclicos, uma vez que pode aumentar sua ação no sistema vascular.

O uso concomitante de sulfato de salbutamol com outros agentes simpaticomiméticos orais pode aumentar os efeitos cardiovasculares de ambos.

Pode reduzir os efeitos antianginosos dos nitratos; dos antidiabéticos orais ou da insulina; dos anti-hipertensivos.

Glicosídeos digitálicos ou levodopa podem aumentar o risco de arritmias cardíacas. Xantinas podem acarretar efeitos aditivos tóxicos.

Interações alimentares

Até o momento não foram constatadas interações alimentares com o uso deste medicamento.

Reações adversas / colaterais

O sulfato de salbutamol solução oral pode causar um discreto tremor na musculatura esquelética, sendo as mãos, geralmente, claramente afetadas. Este efeito está relacionado com a dose e é comum a todos os estimulantes β -adrenérgicos. Alguns pacientes podem sentir uma tensão devido aos efeitos na musculatura esquelética, e não devido a uma estimulação direta no SNC.

Ocasionalmente, cefaleia foi relatada. Pode ocorrer, em alguns pacientes, uma vasodilatação periférica e um pequeno aumento compensatório da frequência cardíaca.

Muito raramente, foram relatadas reações de hipersensibilidade, incluindo angioedema, exantema, urticária, broncoespasmo, edema de faringe, hipotensão, colapso e câibras musculares.

Terapias com agonistas dos receptores β_2 podem resultar em hipocalcemia potencialmente séria.

Casos de hiperatividade foram, raramente, descritos em crianças, semelhante ao que ocorre em outros tratamentos com agonistas de receptores β_2 .

Pode ocorrer taquicardia em alguns pacientes.

Arritmias cardíacas (incluindo fibrilação atrial, taquicardia supraventricular e extrasístoles) têm sido relatadas usualmente em pacientes susceptíveis.

Alteração de exames laboratoriais

Não existem na literatura, dados sobre a alteração em exames laboratoriais mediante o uso de sulfato de salbutamol solução oral.

Posologia

O aumento do uso de agonista de receptores β_2 pode significar um agravamento da asma. Sob estas condições, deve-se fazer uma reavaliação do plano de terapia do paciente e a terapia concomitante com glicocorticoides deve ser considerada.

O salbutamol tem um tempo de duração de ação de 4 a 6 horas na maioria dos pacientes.

Como podem ocorrer efeitos adversos associados com doses excessivas, a dose ou frequência da administração somente deve ser aumentada sob supervisão médica.

Para alívio do broncoespasmo:

Adultos: a dose eficaz, na maioria das vezes, é 4 mg de salbutamol (10 ml da solução oral) três ou quatro vezes ao dia. Caso não seja obtida broncodilatação adequada, a dose por vez pode ser gradualmente aumentada até 8 mg. Contudo, tem-se observado que alguns pacientes obtêm alívio adequado com 2 mg três ou quatro vezes ao dia. Nos pacientes muito sensíveis a estimulantes β -adrenérgicos é aconselhável iniciar o tratamento com 2 mg três ou quatro vezes ao dia.

Crianças: as seguintes doses devem ser administradas três ou quatro vezes ao dia:

2-6 anos: 2,5 ml a 5 ml da solução oral (1 a 2 mg de salbutamol), três a quatro vezes ao dia.

6-12 anos: 5 ml da solução oral (2 mg de salbutamol), três a quatro vezes ao dia.

Acima de 12 anos: 5 ml a 10 ml da solução oral (2 a 4 mg de salbutamol). O medicamento é muito bem tolerado pelas crianças, de modo que, se necessário, estas doses podem ser aumentadas a critério do médico.

Pacientes idosos: recomenda-se iniciar o tratamento com 5 ml da solução oral (2 mg de salbutamol) três ou quatro vezes ao dia.

Superdosagem

O antídoto de escolha para a superdosagem com sulfato de salbutamol é um agente β -bloqueador cardiosseletivo, entretanto, as drogas β -bloqueadoras devem ser usadas com cuidado em pacientes com história de broncoespasmo.

Como pode haver efeitos adversos associados com doses excessivas, a dose ou frequência da administração somente deverá ser aumentada sob prescrição médica.

Pode ocorrer hipocalcemia na superdosagem com salbutamol e neste caso, os níveis séricos de potássio devem ser monitorados.

Pacientes Idosos

Recomenda-se iniciar o tratamento com 5 ml da solução oral (2 mg de salbutamol) três ou quatro vezes ao dia.

VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA

Reg. MS: nº 1.0235.0438
Farm. Resp.: Drª Erika Santos Martins
CRF-SP nº 37.386

Registrado por: EMS S/A.
Rua Com. Carlo Mário Gardano, 450
S. B. do Campo/SP – CEP 09720-470
CNPJ: 57.507.378/0001-01
INDÚSTRIA BRASILEIRA

Fabricado por: EMS S/A.
Hortolândia/SP

"Lote, fabricação e validade: vide cartucho".

SAC 0800-191914
www.ems.com.br

Anexo C – Declaração do Banco de Dentes Humanos

UNIVERSIDADE E SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
BANCO DE DENTES HUMANOS

DECLARAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Para fins de avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) desta Instituição, o Banco de Dentes da FORP – USP compromete-se, a auxiliar pesquisadores na realização de seus projetos.

Sendo assim, após a aprovação do CEP, nossa contribuição consistirá no oferecimento de 84 molares decíduos para a execução do trabalho de pesquisa intitulado “Estudo *in situ* do efeito de solução neutralizante e/ou remineralizante em dente decíduo após exposição a medicamento antiasmático potencialmente erosivo” a ser realizado por Camila Scatena e orientado por Prof^a. Dra. Mônica Campos Serra e Prof^a. Dra. Maria Cristina Borsatto.

Ribeirão Preto, 19 de Outubro de 2012.

Supervisor do Banco de Dentes da FORP-USP

RECEBIDO EM: 22/10/2012.

Assinatura do pesquisador: _____

AVENIDA DO CAFÉ S/Nº - TEL: (0XX16) 3602-3952/3972 - 3633-3136 - FAX (0XX16) 3633-0999

14040-904 – RIBEIRÃO PRETO – S.P. - BRASIL

Apêndice

Termo de Consentimento utilizado para os participantes da pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nós, Camila Scatena (CPF 226.514.498-30), Késsia Suênia Fidelis de Mesquita (CPF 012.927.314-78), Daniel Galafassi (CPF 816.759.090-91) e Mônica Campos Serra (CPF 064.814.058-0), por este instrumento particular declaro, para efeitos éticos e legais, que convidamos (nome) _____, (nacionalidade) _____, (profissão) _____, portador(a) do R.G. nº _____, C.P.F. nº _____, residente e domiciliado(a) à Rua _____, na cidade de _____, a participar da pesquisa **“Estudo *in situ* do efeito de solução neutralizante e/ou remineralizante em dente decíduo após exposição a medicamento antiasmático potencialmente erosivo”**, a ser conduzida sob nossa responsabilidade. Também será nossa responsabilidade apresentar o TCLE e obter seu consentimento. O presente Termo, confeccionado em duas vias de igual teor, será assinado na última página e rubricado nas demais páginas pelos pesquisadores e por você, ficando uma via com o pesquisador responsável e outra com você.

Procedimentos das fases experimentais: Caso seja selecionado para participar da pesquisa, você terá suas arcadas dentárias (superior – maxila; inferior – mandíbula) moldadas para confecção de um aparelho removível em resina acrílica, que ficará em contato com o céu da boca, contendo quatro pedaços de dentes de leite (previamente esterilizados). Dois dias antes do início do experimento, e durante todo seu período, você deverá utilizar exclusivamente a escova e a pasta de dentes fornecidos pelos pesquisadores. O experimento irá durar 15 dias, sendo 5 dias na primeira fase, e 5 dias na segunda fase e 5 dias na terceira fase, com intervalo de 7 dias entre as 3 fases. Durante a fase 1, você deverá gotejar, com o aparelho na mão, 5 ml do medicamento durante 1 min de apenas 1 lado do aparelho removível, depois enxaguar e reinseri-lo na boca, 3x ao dia (8h, 12h e 17h), no laboratório de Dentística da FORP-USP, localizado na Av. do Café s/n, Bairro Monte Alegre na cidade de Ribeirão Preto - SP. Na segunda fase do experimento será realizada a aplicação do medicamento da mesma forma e duração como foi descrito na fase 1, adicionando, logo após, os desafios erosivos (simulação do desgaste do dente em decorrência da medicação utilizada para combater a asma), serão realizados bochechos com o aparelho removível inserido na boca. Para isso, metade dos participantes deverá realizar o bochecho com a solução de bicarbonato e a outra metade com solução que contenha flúor, Plax® (Colgate), definido por sorteio para cada um dos participantes. Este procedimento será realizado 3 vezes por dia, (8h, 14h e 18h). Na terceira fase será realizado o mesmo protocolo da segunda fase, mas com a solução alternativa àquela usada anteriormente. Você deverá utilizar o aparelho durante todo o dia, inclusive durante a noite e removê-lo somente durante as refeições e quando for feita a higiene oral. A higiene oral deverá ser realizada após as refeições, utilizando a pasta e a escova de dentes fornecidas pelos pesquisadores. Nos períodos em que o aparelho não estiver na boca, este deverá estar envolvido em gaze ou algodão umedecidos. Você não deverá usar outras soluções que contenham flúor ou pastas de dentes diferentes daquelas fornecidas pelos pesquisadores durante o experimento.

Riscos e benefícios: Você poderá sentir um desconforto pelo uso do aparelho removível. O risco de desconforto será evitado pela construção do aparelho de forma mais adequada para cada participante, com quantos ajustes forem necessários para que fique confortável e não traumatize os tecidos bucais, de forma semelhante como é feito com aparelhos removíveis na ortodontia. É importante esclarecer que um desconforto leve não causa riscos à saúde geral ou bucal, por isso, caso ocorra algum desconforto, entre em contato imediatamente com a responsável pela pesquisa, Camila Scatena.

Você receberá benefícios indiretos, por meio de esclarecimento de certas questões relevantes para a Dentística, e também por meio da divulgação dos resultados no meio científico, além de ser avaliado no exame clínico bucal e receber um kit de higiene bucal.

Continuação

Forma de acompanhamento e assistência: Os pesquisadores envolvidos estarão à disposição dos participantes para ajustes no aparelho intrabucal a fim de minimizar qualquer desconforto.

Garantia de esclarecimentos: Você tem garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Qualquer dúvida ou problema relativo à pesquisa deve ser comunicado o mais rápido possível à Camila Scatena pelos telefones (16) 32372334, (16) 81770414, ou email: camilascatena@hotmail.com

Retirada do consentimento: Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal-profissional com os responsáveis pela pesquisa.

Ressarcimento ou indenização: Você será ressarcido de eventuais despesas com alimentação e transporte para comparecer na FORP-USP para realização dos procedimentos laboratoriais. Não há risco de danos aos participantes da presente pesquisa. Caso ocorra alguma intercorrência (algum problema), os pesquisadores se comprometem a prestar o atendimento adequado para solucionar o problema.

Garantia de sigilo: Os pesquisadores asseguram a privacidade dos participantes quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Reclamações ou insatisfações relacionadas à participação na pesquisa poderão ser comunicadas por escrito ou telefone (16) 3602-0251 à Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa, Ana Aparecida Ferreira do Nascimento, sendo que seu nome será mantido em anonimato.

Li, compreendi, concordo em participar desta pesquisa, por isso assino este termo;

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 20__.

Mônica Campos Serra

CPF 064.814.058-0

Camila Scatena

CPF 226.514.498-30

Késsia Suênia Fidelis de Mesquita

CPF 012.927.314-78

Daniel Galafassi

CPF 816.759.090-91

Participante