UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

*Efeito do processo erosivo causado por
diferentes bebidas na resistência a união de diferentes
sistemas adesivos em superfície de esmalte.
Análise in vitro e in situ/ex vivo*

Linda Wang

**BAURU
2011**

LINDA WANG

Efeito do processo erosivo causado por diferentes bebidas na resistência a união de diferentes sistemas adesivos em superfície de esmalte. Análise *in vitro* e *in situ/ex vivo*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para o Concurso Público de Títulos e Provas visando a obtenção do título de Livre Docência, junto ao Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários.

Versão corrigida

BAURU
2011

W184e Wang, Linda
Efeito do processo erosivo causado por diferentes bebidas na resistência a união de diferentes sistemas adesivos em superfície de esmalte. Análise *in vitro* e *in situ/ex vivo*/ Linda Wang. – Bauru, 2011.
119 p. : il. ; 30cm.

Tese (Livre-docência) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

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

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 102/2008
Data: 06 de abril de 2009

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Dedico a **Deus**, com todo o meu amor e agradecimento, porque todas as minhas oportunidades, como este trabalho, são suas conquistas. Acredito que sem a sua vontade e sua presença, nada somos e nada conseguimos. Em todas as situações, difíceis ou tranquilas, temos oportunidades de crescimento, de aprendizado e amadurecimento que Deus nos permite vivenciar. Mais uma vez, reconheço e agradeço a Sua abençoada importância na minha vida. Obrigada, Pai!

“O Senhor é meu Pastor e nada me faltará!” (Salmos 23:1)

À minha família, especialmente aos meus pais, **Guan Yih Wang (in memorian)** e **Wang Wu Tzu Jung**, que sempre foram meus grandes exemplos de perseverança, de trabalho e de honestidade. Com todo o amor, sempre permitiram que eu e minha irmã Ellen, pudéssemos seguir nossos caminhos com segurança. À **Ellen** e ao meu cunhado **Nilson Rossi**, também dedico este trabalho. Amo todos vocês!

Como o significado de família podemos estender àqueles que nos acompanham intensamente nas nossas vidas, dedico também à querida família de meus amigos **Daniela Rios**, **Heitor Marques Honório** e à querida **Marina Rios Honório** pois, no dia-a-dia, são meus irmãos e sobrinha de coração. Foram tantas lutas e conquistas vivenciadas, que somente a família pode compartilhar. E também à minha querida irmã **Maria Teresa Atta**, que sempre ensina os amigos a viver com sabedoria e leveza. Muito obrigada por tudo mesmo!

Agradecimentos *Especiais*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha amiga **Ana Carolina Magalhães**, que desde que retornei a Bauru, tem sido um exemplo de amizade, dedicação e determinação.

Aos meus queridos amigos, que conheci ainda durante a pós graduação, **Ana Paula R. do V. Pedreira, Fernanda C. P. Garcia, Júlio César F. Almeida, Paulo H.P. D'Alpino, Nádia R. Svizero, Rosa Maria V. de B. Garcez, Safira de A. M. da Silva, Marcela R. de O. Carrilho, Daniela F. G. Cefaly, Angélica R. Hannas e Patrícia E. S. Matos**. Amizades que a cada dia se fortalecem apesar da distância geográfica de muitos. Que possamos continuar parceiros na vida e na profissão.

Aos professores que, desde a graduação, me incentivaram de forma especial e que considero exemplos constantes: **Profa. Dra. Denise Tostes de Oliveira** e **Prof. Dr. Eduardo Batista Franco**. Moldar um aluno, valorizar seu potencial e redirecionar nos momentos que nos sentimos perdidos foram ações que vocês praticaram nos momentos certos, contribuindo imensamente na minha vida.

À **Profa. Dra. Maria Fidela de Lima Navarro**, profissional visionária e que hoje tenho a honra de ter como companheira de sala. Saiba que seu entusiasmo constante é reconhecido em cada conquista alcançada que vivenciamos hoje no nosso trabalho.

Aos meus queridos amigos de Londrina, **Karen B. P. Fernandes, Marcos P. Fernandes, Luciana L. Meneghel, Fernando P. Meneghel, Rafaela C. Silva e Souza, Rodrigo A. Bordin, Liliana de P. G. Capellari, Andrezza A. Ozelin, Liliam L. C. Paes Mello, Edgard Paes Mello e Valter F. Scalco**. Nesses anos, tive a oportunidade desse convívio, que é sempre tão agradável. Vocês me acolheram em um momento especial da minha vida e não há como expressar o valor desse carinho.

Aos queridos amigos **Carlos Ferreira dos Santos, Marília Afonso Rabelo Buzalaf** e **Ricardo Marins de Carvalho**. Sempre com paciência, confiança e incentivo, me abriram novos caminhos. Tenho certeza de que vocês sabem da grande contribuição na minha vida. Além da admiração, tenho imenso carinho por vocês. Que continuemos amigos, apesar da correria não permitir um convívio maior!

À querida **Profa. Dra. Lucimar Falavinha Vieira** e **sua família**, pelo exemplo de luta, amor e amizade. Vocês são especiais.

À uma pessoa especial, **Eloisa Elena Turbiani**, que me permitiu o conforto necessário para a minha instalação em Bauru desde que cheguei.

Às doutorandas **Flávia Nahsan, Karin C. S. Modena, Leslie C. Casas-Apayco, Luciana F. Francisconi, Luciana M. Silva** e **Marcela P. Calábria**. Desde o momento em que iniciei minhas atividades docentes na FOB, vocês depositaram confiança em meu trabalho, o que foi essencial para que eu caminhasse os primeiros passos por aqui. Sem a ajuda de vocês, teria sido difícil. Sempre me lembrarei disso, obrigada!

Às alunas de iniciação científica, **Ana Carolina Hipólito, Vanessa M. Dreibi** e **Marina C. Giacomini**. Obrigada não apenas por me ajudarem com a parte experimental, também cumprindo suas responsabilidades, mas pelo convívio e amizade que estabelecemos. Também aprendi muito com vocês. Junto com a ajuda da Leslie, vocês ajudaram imensamente!

À querida **D. Eloisa Maria Pagani Pereira**, ou se me permite, **Tia Elo**. Agradeço não somente pelo trabalho cuidadoso do texto, mas principalmente pelo carinho que sempre demonstrou. Sua presença sempre nos acalma e nos alegra.

À UNOPAR, Universidade Norte do Paraná, em nome da Reitora **Profa. Dra. Wilma Jandre Melo**, que com seriedade e carinho, possibilitou um ciclo de trabalho e amizades de grande valor. Aos colegas e amigos em especial, com quem comecei juntos este caminho: **Alcides Gonini-Júnior, Daniela Francisca Gigo Cefaly, Flaviana Bombarda de Andrade, Karen Barros Parron Fernandes, Luiz Reynaldo de Figueiredo Walter, Régia Luzia Zanata, Regina Célia Poli-Frederico e Sandra Mara Maciel.**

À **FOB, Faculdade de Odontologia de Bauru**, em nome do **Prof. Dr. José Carlos Pereira** e **Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado**, diretor e vice-diretora, respectivamente. Mais do que um agradecimento institucional, essa Faculdade apresenta um valor singular na minha vida. Quantas experiências, quanto aprendizado! Obrigada, sempre.

A **todos os meus amigos**, que a vida me agraciou. Não os listarei para que esta página não se estenda por inúmeras outras. Vocês sabem da importância que cada um representa para mim. Meu eterno agradecimento!

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

A todos os professores do *Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Bauru*: **Profa. Dra. Ana Flávia S. Borges, Prof. Dr. Aquira Ishikirima, Prof. Dr. Carlos E. Francischone, Prof. Dr. César A. Freitas, Prof. Dr. Clóvis M. Bramante, Prof. Dr. Eduardo B. Franco, Profa. Dra. Flaviana B. de Andrade, Prof. Dr. Ivaldo G. de Moraes, Prof. Dr. José Carlos Pereira, Prof. Dr. José Mondelli, Profa. Dra. Maria Fidela de L. Navarro, Prof. Dr. Marco Antônio H. Duarte, Profa. Dra. Maria Teresa Atta, Prof. Dr. Norberti Bernardineli, Prof. Dr. Paulo de A. Amarante, Prof. Dr. Paulo A. S. Francisconi, Prof. Dr. Roberto B. Garcia, Prof. Dr. Sérgio Kiyoshi Ishikirima**. Estendendo também ao **Prof. Dr. Emerson A.C. Coneglian**. Agradeço a todos pela parceria e convívio, mas principalmente pelo aprendizado inesgotável, não apenas pela riqueza de conhecimento de cada um, mas pela pessoa que cada um representa. Em especial agradeço aos **Prof. Dr. Rafael F. L. Mondelli** e **Profa. Dra. Maria Teresa Atta**, que desde as orientações no mestrado e doutorado, respectivamente, tem me ajudado a caminhar como colegas, permitindo construir meu caminho e me orientando sempre. Aos colegas e amigos **Profa. Dra. Ana Flávia S. Borges** e **Prof. Dr. Sérgio Kiyoshi Ishikirima**, que junto com sua esposa **Bella Luna Colombini Ishikirima**, tem possibilitado um trabalho prazeroso e construtivo. Obrigada por toda a ajuda de vocês.

À todos os que confiaram e confiam em meu trabalho de orientação, compreendendo que esse caminho é sempre um aprendizado conjunto. Aos **alunos de iniciação científica, pós graduação e especialização**, agradeço por toda nossa construção. Em especial, agradeço a **Thales de A. Pinto, Camila C. Libardi, Martha B. Michielin, Sérgio C. de Moraes, Camila M. Machado, Aline C. Zamuner, Vanessa P. Canabrava, Jaine Zanolla e Diana Ferreira Gadelha de Araújo**.

Aos **funcionários do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários: Ritinha, Sandrinha, Nelson, Edmauro, Zuleica, Ligia, Alcides, Suely, Benedito, Rafael e Elizabete** que fazem toda a diferença no dia-a-dia. Entre cafezinhos e correria da nossa rotina, a presença constante nos faz sentir amparados, não porque cumprimos nossos deveres, mas porque procuramos nos ajudar como seres humanos. Esse agradecimento também inclui as queridas **Maria, Ângela e D. Neide** que sempre muito me ajudaram. Reconheço e agradeço por todos vocês.

Aos **funcionários do Laboratório de Bioquímica, Aline, Larissa, Thelma e Ovídio** e aos **funcionários do Centro Integrado de Pesquisas – CIP, Márcia, Marcelo e Renato**, que sempre permitiram que pudéssemos trabalhar com tranquilidade, porque sempre dependemos do apoio que vocês nos deram e que nunca nos faltou.

Aos órgãos de Fomento, **CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e FAPESP- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo**, que com apoio por meio de auxílios de pesquisa e bolsas de alunos, confiaram na qualidade do projeto apresentado. Com esse apoio, nosso trabalho pôde ser desenvolvido com suporte inestimável.

Ao **Setor de Biblioteca e Documentação da FOB-USP**, em nome de **Cybelle de A. Fontes**, pela atenção dispensada em todos os momentos necessários desse trabalho. Em especial, à **Maria Helena S. Ronchesel, Rita de Cássia Paglione, Valeria C. T. Ferraz, José R. P. Amadei** e **Sonia C.P. Rodrigues**.

Às funcionárias responsáveis pelo **Setor de Comissões da FOB-USP**, **Ana Paula M. Libel, Maristela P. Ferrari** e **Marina dos S. Côrrea**, pelo suporte do trabalho do Comitê de Ética em Pesquisa.

*“Pensamos demasiadamente.
Sentimos muito pouco.
Necessitamos mais de humildade,
que de máquinas.
Mais de bondade e ternura,
que de inteligência.
Sem isso,
A vida se tornará violenta e
Tudo se perderá.”*

Charles Chaplin

RESUMO

A erosão dentária consiste em uma das causas de desgaste dentário que acomete inicialmente o esmalte, por meio de um amolecimento da superfície, podendo comprometer também a dentina. A compreensão do mecanismo erosivo permite determinar estratégias para sua prevenção, controle e tratamento. Em função do comprometimento do esmalte, esse substrato requer, em alguns casos, o tratamento por meio de restauração adesiva. Este trabalho consta de três fases e teve por objetivo analisar a união de diferentes sistemas adesivos a superfícies de esmalte, após ciclagem erosiva *in vitro* e *in situ/ex vivo*. Inicialmente, um estudo *in vitro* foi realizado envolvendo desafios por 3x/1 minutos/1 dia por 3 bebidas erosivas à base de cola (Coca-Cola Regular, Coca Light e Coca Zero) associados ou não à escovação. Fragmentos de esmalte bovino foram adequadamente obtidos, polidos e selecionados através de teste de microdureza. Após os desafios, foram restaurados com o sistema convencional de dois passos Adper Single Bond 2 e preparados para testes quantitativos de desgaste, microdureza, e de resistência adesiva e qualitativa por microscopia de varredura confocal a laser. Uma vez que a Coca-Cola Regular foi o agente mais erosivo, as demais fases foram realizadas unicamente com sua utilização. Assim, as hipóteses nulas testadas nas duas fases seguintes foram: 1- Não há diferença de adesão ao esmalte normal ou erodido/abrasionado; 2- Não há diferença de adesão ao esmalte erodido/abrasionado de acordo com o sistema adesivo utilizado. Para os testes *in vitro*, os mesmos passos foram seguidos, entretanto, com desafios erosivos de 3x/1min de imersão por 1 ou 5 dias, associados ou não à escovação. No teste *in situ/ex vivo*, 8 fragmentos de esmalte foram preparados para cada dispositivo intrabucal. A cada 24 horas, os voluntários efetuaram 3 ciclos extrabucal de 3x/5min em Coca-Cola em metade dos blocos. Metade dos blocos não erodidos e erodidos foram seqüencialmente escovados por 1 minuto. Ao final de 5 dias, os dispositivos foram recolhidos e os espécimes foram identificados. Após os desafios *in vitro* e *in situ/ex vivo*, as superfícies de esmalte foram restauradas com diferentes sistemas adesivos (Scotchbond Multipurpose, Adper Single Bond 2 e Clearfil SE Bond) e resina composta (Filtek Z250). Palitos com 0,64-1,00mm² de área média foram obtidos e submetidos ao teste de resistência adesiva por microtração em máquina de ensaios universal a 0,5mm/min.

As interfaces rompidas foram analisadas sob microscopia ótica 40X para identificar o modo de fratura. Os dados apresentaram distribuição normal e foram analisados por ANOVA e testes de comparação múltipla ($p < 0,05$). Na primeira fase, a Coca-Cola Regular apresentou-se como o agente erosivo que promoveu a maior alteração da superfície de esmalte, comprometendo a resistência adesiva e a qualidade da interface. Na fase *in vitro*, não houve diferença de resistência adesiva quando os diferentes sistemas adesivos foram aplicados, entretanto para a fase *in situ/ex vivo*, o Adper Single Bond 2 revelou-se inferior. Baseados nesses resultados, podemos concluir que as bebidas à base de cola podem comprometer as características da superfície de esmalte e que os sistemas adesivos podem apresentar desempenhos distintos nesses substratos após desafios.

Palavras-chave: Esmalte. Erosão. Microdureza. Desgaste. Resistência adesiva.

ABSTRACT

Effect of erosive process caused by different beverages on bond strength of different bonding systems to enamel. *In vitro* and *in situ/ex vivo* analyses

Tooth erosion is considered a cause of dental wear with initial softening of enamel, which can also compromise dentin. The comprehension of erosive mechanism aids to determine its strategies of prevention, control and treatment. According to enamel compromising, it requires in some cases, an adhesive restoration approach. This study consisted of three phases and aimed to analyze adhesion of different bonding systems to enamel surface after *in vitro* and *in situ/ex vivo* erosive cycles. First, an *in vitro* experiment was performed involving 3 cola-based beverages (Regular Coke, Light Coke and Zero Coke) challenged for 3x/1min for a day associated or not to toothbrushing. Enamel specimens were adequately prepared, polished and selected by microhardness. After challenges, they were restored by a two-step etch-and-rinse system (Adper Single Bond 2), which were prepared to quantitative tests of wear, microhardness and bonding and also qualitative analysis using confocal laser scanning microscopy. As Regular Coke was the most erosive agent, the following phases only used this beverage. Thus the null hypotheses were: 1- There is no difference on bonding to normal or eroded/abraded enamel surface; 2- There is no difference on bonding to eroded/abraded enamel according to dentin bonding system. For *in vitro* tests, same previous steps were performed however with erosive challenges for 3x/1min for 1 and 5 days, immediately associated or not to 1-minute toothbrushing. In *in situ/ex vivo* test, 8 specimens were prepared for each intraoral palatal device. Volunteers performed erosive challenge extraorally on half of the specimens in Regular Coke for 3x/5min for 5 days. Half of the not eroded and eroded specimens were subsequently abraded for 1 minute. After the end of 5 days, the devices were collected and the specimens were identified. After *in vitro* or *in situ/ex vivo*, enamel surfaces were restored with different dentin bonding systems (Scotchbond Multipurpose, Adper Single Bond 2 e Clearfil SE Bond) and resin composite (Filtek Z250). Sticks of 0.64-1.00 mm² of average area were obtained and submitted to microtensile bond strength using a universal test machine with 0.5mm/min. Fractured specimens were analyzed by

optical microscopy 40X to identify the fracture mode. Data presented normal distribution and was analyzed with ANOVA and by multiple comparison tests ($p < 0.05$). At the first phase, Regular Coke presented as the most erosive agent, provoking the most changes on enamel surface and compromising bonding strength and interface quality. *In vitro* test showed no differences among the dentin bonding systems, however in *in situ/ex vivo* study, Adper Single Bond 2 was comparatively inferior to other systems. Based on these results, we can conclude that cola-based beverages can compromise characteristics of enamel surface and that the dentin bonding systems show different performance applied on challenged surfaces.

Key words: Enamel. Erosion. Microhardness. Wear. Bond strength.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Desgaste dos dentes de um paciente consumidor de Coca-Cola com alta frequência, envolvendo a superfície de esmalte na face vestibular, principalmente na região cervical (Fotografia gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Júlio C. F. Almeida).....	32
Figura 2 -	Desgaste de esmalte dentário na face oclusal e palatina por erosão, com início de exposição da superfície dentinária. Nota-se a borda em esmalte na região cervical, bem característica da evolução da erosão dentária (Fotografia gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Júlio C. F. Almeida).....	32
Figura 3 -	Esquema representativo da hierarquia estrutural do tecido de esmalte dentário, proposto por Cui, Ge 2007, da ordem de nanoescala até a microescala (CUI; GE, 2007).....	37
Figura 4 -	Fluxograma da sequência dos desafios erosivos/mecânicos do modelo experimental <i>in situ/ex vivo</i>	64
Figura 5 -	Gráfico comparativo de desgaste de esmalte (μm) após erosão provocada por bebidas à base de cola, seguida ou não por abrasão por escovação.....	69
Figura 6 -	Gráfico comparativo de perda de dureza de esmalte (%) após erosão provocada por bebidas à base de cola, seguida ou não por abrasão por escovação.....	70
Figura 7 -	Aspecto da superfície de esmalte polida não desafiada (controle).....	71
Figura 8 -	Aspecto da superfície de esmalte polida desafiada por Coca-Cola.....	71
Figura 9 -	Aspecto da superfície de esmalte polida desafiada por Coca Light.....	72
Figura 10 -	Aspecto da superfície de esmalte polida desafiada por Coca Zero.....	72

Figura 11 -	Gráfico comparativo entre as médias de resistência adesiva (MPa) das condições testadas, considerando-se o tipo de erosão associado ou não à abrasão por escovação.....	73
Figura 12 -	Gráfico de distribuição em porcentagem do tipo de falha de união de acordo com o tratamento.....	74
Figura 13 -	Interface do sistema adesivo ao esmalte não desafiado (grupo controle). Os <i>tags</i> resinosos apresentam-se distribuídos de forma homogênea, revelando um embricamento uniforme.....	75
Figura 14 -	Qualidade da interface estabelecida entre o sistema adesivo e o esmalte previamente erodido com Coca-Cola...	76
Figura 15 -	Qualidade da interface estabelecida entre o sistema adesivo e o esmalte previamente erodido com Coca Light...	76
Figura 16 -	Qualidade da interface estabelecida entre o sistema adesivo e o esmalte previamente erodido com Coca Zero....	77
Figura 17-	Gráfico comparativo dos valores de resistência adesiva (MPa) de acordo com os diferentes sistemas adesivos nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos no modelo experimental <i>in vitro</i>	78
Figura 18 -	Gráfico de distribuição em porcentagem do tipo de falha de união de acordo com o sistema adesivo empregado e desafio erosivo/abrasivo <i>in vitro</i>	79
Figura 19 -	Gráfico comparativo dos valores de resistência adesiva (MPa) de acordo com os diferentes sistemas adesivos nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos no modelo experimental <i>in situ/ ex vivo</i>	81
Figura 20 -	Gráfico de distribuição em porcentagem do tipo de falha de união de acordo com o sistema adesivo empregado e desafio erosivo/abrasivo <i>in situ/ ex vivo</i>	81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Composição dos agentes de imersão.....	53
Quadro 2 -	Grupos testados de acordo com os desafios erosivos/abrasivos.	54
Quadro 3 -	Grupos testados de acordo com os desafios erosivos/abrasivos <i>in vitro</i>	58
Quadro 4 -	Sistemas adesivos utilizados na reconstrução adesiva.....	59
Quadro 5 -	Grupos testados de acordo com os desafios erosivos/abrasivos <i>in situ/ex vivo</i>	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de média e desvio-padrão de desgaste de esmalte (μm) após erosão/abrasão.....	69
Tabela 2 - Valores de média e desvio padrão de perda de dureza em esmalte (%) após erosão/abrasão.....	70
Tabela 3 - Valores de média e de desvio-padrão de resistência adesiva (MPa) de esmalte previamente erodidos/abrasionados restaurados com resina composta.....	73
Tabela 4 - Valores de resistência adesiva (MPa) utilizando cada sistema adesivo nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos <i>in vitro</i>	78
Tabela 5 - Valores de resistência adesiva (MPa) utilizando cada sistema adesivo nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos <i>in situ/ex vivo</i>	80

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DE LITERATURA	29
3	PROPOSIÇÃO	43
4	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	49
4.2	PREPARO DO ESPÉCIME	49
4.2.1	Seleção e Preparo dos Blocos de Dentes Bovinos	49
4.2.2	Polimento do Esmalte de Dentes Bovinos	51
4.2.3	Análise de Microdureza Superficial do Esmalte	52
4.3	VALIDAÇÃO DA FORMAÇÃO DE LESÕES ARTIFICIAIS DE EROÇÃO	52
4.4	FASE EXPERIMENTAL <i>IN VITRO</i>	53
4.4.1	Avaliação da Influência de Diferentes Tipos de Refrigerantes Tipo Cola Como Agente Erosivo na Adesão ao Esmalte	53
4.4.1.1	Desafios Erosivos	54
4.4.1.2	Restauração das Superfícies de Esmalte e Obtenção de Palitos	55
4.4.1.3	Análise de Microtração	55
4.4.1.4	Análise de Microscopia Óptica	56
4.4.1.5	Análise de Microscopia de Varredura a Laser Confocal (MVLC)	56
4.4.1.6	Análise Estatística	57
4.4.2	Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasionado por Coca-Cola Regular em Modelo <i>In Vitro</i>	57
4.4.2.1	Desafios Erosivos	57
4.4.2.2	Restauração das Superfícies de Esmalte e Obtenção de Palitos	58
4.4.2.3	Análise de Microtração	60
4.4.2.4	Análise de Microscopia Óptica	60
4.4.2.5	Análise Estatística	60
4.5	FASE EXPERIMENTAL <i>IN SITU/ EX VIVO</i>	61

4.5.1	Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasionado por Coca-Cola Regular em Modelo <i>In Situ/ Ex Vivo</i>	61
4.5.1.1	Seleção dos Voluntários	61
4.5.1.2	Confecção dos Dispositivos Intrabuciais Palatinos	62
4.5.1.3	Fase Experimental	62
4.5.1.4	Restauração das Superfícies de Esmalte e Obtenção de Palitos	65
4.5.1.5	Análise de Microtração	65
4.5.1.6	Análise de Microscopia Óptica	65
4.5.1.7	Análise Estatística	65
5	RESULTADOS	67
5.1	VALIDAÇÃO DO TESTE	69
5.2	FASE EXPERIMENTAL <i>IN VITRO</i>	72
5.2.1	Avaliação da Influência de Diferentes Tipos de Refrigerantes Tipo Cola Como Agente Erosivo na Adesão ao Esmalte	72
5.2.2	Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasionado por Coca-Cola Regular em Modelo <i>In Vitro</i>	77
5.3	FASE EXPERIMENTAL <i>IN SITU/EX VIVO</i>	80
5.3.1	Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasionado por Coca-Cola Regular em Modelo <i>In Situ/ Ex Vivo</i>	80
6	DISCUSSÃO	83
7	CONCLUSÕES	97
	REFERÊNCIAS	101
	ANEXOS	117

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Na Odontologia Restauradora Adesiva, a presença de substrato de esmalte, sobretudo nas margens cavitárias é um dos requisitos fundamentais no sucesso de uma restauração satisfatória e duradoura (PERDIGÃO; GERALDELI, 2003; CANDENARO et al., 2008; PASHLEY et al., 2011).

Geralmente, os preparos cavitários envolvem esmalte e dentina, entretanto em outro procedimentos, apenas o esmalte é envolvido, sem o acometimento de dentina, como o fechamento de diastemas, reanatomização, clareamento e colagem de bráquetes ortodônticos (PERDIGÃO; GERALDELI, 2003; NAVARRO et al., 2009; REIS et al., 2009; CAL-NETO et al., 2011; LAGO et al., 2011; PASHLEY et al., 2011).

O esmalte e suas características morfofuncionais compõe um tecido homogêneo, ricamente mineralizado por cristais de hidroxiapatita e dispostos em prismas que favorecem a interação com o substrato, permitindo a permeação do material adesivo após um condicionamento ácido. Assim, estabelece-se um embricamento mecânico com projeções denominadas de *tags* e a interface propriamente dita, também denominada camada híbrida, uma faixa que apresenta simultaneamente dois componentes de naturezas distintas (PASHLEY et al., 2011).

Entretanto, evidências recentes chamam a atenção para o fato de que o esmalte a ser restaurado não se apresenta necessariamente com características padronizadas e em condições ideais de adesão indiscriminadamente (MINE et al., 2010). Isso porque o esmalte se encontra na cavidade bucal, um ambiente dinâmico, rico em trocas iônicas, sendo frequentemente exposto a desafios químico-mecânicos, os quais podem variar com os hábitos de cada indivíduo.

Desafios prévios que alteraram o tecido dentário, como cárie ou clareamento dentário, têm sido extensamente investigados, destacando-se as alterações decorrentes que requerem cuidados específicos antes do procedimento restaurador devido às implicações na obtenção de uma adequada adesão ao esmalte e dentina (LARSEN, 1991; CAVALLI; GIANNINI; CARVALHO, 2004; SASAKI et al., 2009; BARCELLOS et al., 2010; ENGLE et al., 2010; BITTENCOURT et al., 2010; PERDIGÃO et al., 2010; ZANCHI et al. 2010).

Sob esse prisma, o esmalte das superfícies dentárias presentes na cavidade bucal de indivíduos que sofrem ou sofreram de erosão dentária se apresenta como um substrato alterado (BARTLETT et al., 2005; BARTLETT; GANSS; LUSSI, 2008; NAVARRO et al., 2009; REIS et al., 2009). A erosão dentária tem sido reconhecida como um problema crescente, decorrente da perda de estrutura provocada por exposição ao ácido de origem não bacteriana (IMFELD, 1996; LUSSI, 1996; ZERO, 1996; FEDERLIN et al., 1998; JENSDOTTIR et al., 2004; BARTLETT; GANSS; LUSSI, 2008; MAGALHÃES et al., 2009b; PIANGPRACH et al., 2009; SERRA; MESSIAS, TURSSI, 2009; SPREAFICO, 2010).

O estabelecimento de lesões de erosão dentária é, em boa parte, favorecido pela dieta atual que propicia uma rica ingestão de bebidas ácidas como refrigerantes e sucos cítricos e por distúrbios gastroesofágicos determinados por problemas psicossomáticos (ROSA; NICOLAU, 1984; ABRAHAMSEN, 2005; SCALCO et al., 2005; BARTLETT; GANSS; LUSSI, 2008; HARA; ZERO, 2008b; MAGALHÃES et al., 2009b; WILDER et al., 2009; WILDER-SMITH et al., 2009; SPREAFICO, 2010). Atualmente, os refrigerantes são considerados um dos principais fatores etiológicos extrínsecos, uma vez que o seu consumo vem sendo crescente ao redor do mundo, tornando-se bastante expressivo, destacando-se os do tipo cola (FEDERLIN et al., 1998). Estudos *in situ/ex vivo* têm demonstrado que versões diferentes (*light*) deste refrigerante propiciam níveis diferenciados de comprometimento dos substratos dentários (RIOS et al., 2009a; RIOS et al., 2011).

Apesar das investigações, ainda há uma série de dúvidas relacionadas ao desenvolvimento e progressão da erosão dentária devido aos fatores comportamentais e biológicos que podem interferir conjuntamente com os fatores químicos (FEDERLIN et al., 1998; JENSDOTTIR et al., 2004; ZERO; LUSSI, 2005; LUSSI; JAEGG, 2008; MAGALHÃES et al., 2009b; PIANGPRACH et al., 2009; SERRA; MESSIAS, TURSSI, 2009; SPREAFICO, 2010; WANG, LUSSI, 2010). Em função dessa complexidade etiológica, outros fatores, além do ácido, devem ser destacados como as propriedades salivares (composição e fluxo) (HARA et al., 2006; RIOS et al., 2006b; HARA et al., 2008a; WIEGAND et al., 2008b; BAVBEK et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2009b; PIANGPRACH et al., 2009) e forças mecânicas (escovação) (RIOS et al., 2006; GANSS et al., 2007; WIEGAND et al.,

2007; WIEGAND et al., 2008b; GANSS et al., 2009; YU et al., 2009; VORONETT; LUSSI, 2010).

Várias abordagens para a prevenção da erosão do esmalte dentário têm sido discutidas, mas poucos com comprovada evidência clínica (MAGALHÃES et al., 2009b; SOUZA et al., 2010; WIEGAND et al., 2010a; WIEGAND et al., 2010b; WANG et al., 2011). O grau de comprometimento e os demais fatores envolvidos resultam em diferentes implicações clínicas (SCALCO et al., 2005; CORRER et al., 2009; REIS et al., 2009; YU et al., 2009; SPREAFICO et al., 2010) com distintas perspectivas de sucesso restaurador (MAGALHÃES et al. 2009b; SERRA; MESSIAS, TURSSI, 2009; SPREAFICO, 2010; WANG; LUSSI, 2010).

Nesse sentido, a busca pelo melhor entendimento dos fatores envolvidos, visa a permitir o diagnóstico precoce das lesões erosivas. Para essa finalidade, alguns índices estão sendo propostos, considerando-se os fatores de risco e as características clínicas (BARTLETT; GANSS; LUSSI, 2008; YOUNG et al., 2008). O objetivo desses índices é possibilitar a intervenção precoce com interposição de medidas preventivas e tratamento restaurador conservativo, quando necessário, restrito ao esmalte dentário, evitando a exposição dentinária, hiperestesia dentinária e necessidade de restaurações mais complexas para seu tratamento (FEDERLIN et al., 1998, KIM et al., 2005; REIS et al., 2009; WILDER et al., 2009; WANG; LUSSI, 2010).

Especificamente quanto ao substrato previamente erodido, ainda há pouco relato quanto às suas implicações nos procedimentos restauradores, principalmente no que diz respeito à adesão do material restaurador.

O mecanismo de adesão ao esmalte tem sido atribuído, sobretudo, ao aspecto mecânico e fundamenta-se basicamente na impregnação de um material resinoso fluido a uma estrutura superficial previamente desmineralizada por condicionamento ácido (NAKABAYASHI; NAKAMURA; YASUDA, 1991; PASHLEY; TAY, 2001; VAN MEERBEEK et al., 2003; VAN MEERBEEK et al., 2005). Com o advento de ferramentas de melhor resolução e conhecimentos mais específicos, essa estrutura vem sendo reavaliada, revelando a possibilidade de diferentes mecanismos como uma adesão química, dependente do sistema, mesmo que em menores proporções (VAN MEERBEEK et al., 2003, YOSHIDA et al., 2004; CUI; GE, 2007).

Além disso, a evolução dos sistemas adesivos permitiu diferentes combinações dos três passos que envolvem o processo de adesão à estrutura dentária (VAN MEERBEEK et al., 2003). Desses sistemas, os convencionais de três e dois passos e o autocondicionante de dois passos têm sido bastante utilizados, apesar da restrição para algumas situações clínicas das versões combinadas/simplificadas, limitando seu uso universal (SUH et al., 2003; TAY et al., 2003).

Uma vez que a erosão também provoca alterações substanciais, os aspectos relacionados devem ser investigados para se propor abordagens clínicas condizentes com as novas perspectivas. Nesse cenário, há estudos de avaliação relacionados aos substratos erodidos envolvidos em etiologias multifatoriais como as lesões cervicais não cariosas (FEDERLIN et al., 1998; CORRER et al., 2009; WILDER et al., 2009). Ainda há poucos trabalhos, como o de Reis et al. (2009), que apresentam uma intervenção precoce envolvendo apenas o esmalte erodido.

Diante do cenário de maior prevalência de erosão dentária, sua relação de causa e efeito com a ingestão de refrigerantes e a necessidade de tratamento restaurador precoce, o conhecimento das implicações da erosão do esmalte na adesão subsequente ao material restaurador, considerando a existência de diferentes sistemas adesivos deve ser estudada.

2

Revisão

de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

O desgaste dentário tem-se apresentado clinicamente de forma cada vez mais frequente, decorrente de diferentes etiologias (FEDERLIN et al., 1998; JENSDOTTIR et al., 2004). Independente da origem, acomete inicialmente a estrutura de esmalte, podendo avançar até a dentina, provocando prejuízos mecânicos e biológicos do elemento dentário envolvido.

Os eventos clínicos que levam ao desgaste podem ser primariamente de ordem mecânica, como a abrasão e abfração, e de ordem química como a erosão (BISHOP, 1997; ABRAHAMSEN, 2005), as quais podem ocorrer isoladamente ou em associação, constituindo-se como eventos de ordem multifatorial (LUSSI, 1996; BISHOP, 1997; ABRAHAMSEN, 2005). O correto diagnóstico desses fatores é que determina a conduta clínica na abordagem dessas lesões (BARTLETT; GANSS; LUSSI, 2008; YOUNG et al., 2008; WANG; LUSSI, 2010).

A erosão dentária consiste no desgaste químico de superfície sem a participação de microrganismos. O mecanismo de desmineralização envolve a ação direta de íons hidrogênio liberados por produtos ácidos na presença de água que se ligam diretamente aos íons carbonatos ou fosfatos da estrutura dentária, ou a ação de ânions capazes de se ligar ao cálcio, formando outros complexos (LARSEN 1991; BARBOUR et al., 2005). Como resultado a hidroxiapatita é perdida para o ambiente bucal, levando ao desarranjo molecular e desestruturação da estrutura prismática do esmalte. Eventos repetidos de erosão provocam o desgaste estrutural do dente (VORONETS; WANG, 2010). Dessa forma, em um primeiro estágio, a erosão provoca um amolecimento da superfície, a qual pode ser remineralizada pela saliva. Com a evolução da lesão, em um segundo estágio, esta superfície fica muito fragilizada, desprendendo-se da superfície e resultando em desgaste, com perda irreversível da estrutura. Desse momento em diante, caso o desafio erosivo persista, uma nova superfície sofrerá o primeiro estágio de amolecimento e assim sucessivamente.

O primeiro estudo *in vitro* sobre as alterações decorrentes do processo de erosão do esmalte humano foi realizado onde foram flagradas macroscopicamente áreas de descalcificação manifestadas clinicamente como manchas brancas no

esmalte, quando exposto a pedaços de laranja. As alterações microscópicas ocorridas no processo de desmineralização do esmalte foram também demonstradas por Silverstone (1970) e, mais especificamente no processo de erosão dentária, por Meurman; Frank (1991).

Cenários clínicos de erosão dentária são representados pelas Figuras 1 e 2, ilustrando a ação de desgaste envolvendo esmalte até o estágio de exposição do tecido dentinário, podendo acometer tanto dentes anteriores como posteriores. De uma forma geral, caracteriza-se por uma superfície mais amolecida, com aspecto brilhante ou até mesmo sem brilho, porém com ausência de periquimácias (LUSSI; JAEGG, 2008; WANG; LUSSI, 2010). Um aspecto interessante é a preservação de esmalte na margem cervical devido ao fato de que a presença de biofilme ou do fluido tissular proveniente do sulco gengival poderia oferecer características de proteção à ação dos ácidos, modulando este efeito desmineralizante (LUSSI; JAEGG, 2008).

Figura 1 - Desgaste dos dentes de um paciente consumidor de Coca-Cola com alta frequência, envolvendo a superfície de esmalte na face vestibular, principalmente na região cervical (Fotografia gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Júlio C. F. Almeida)

Figura 2 - Desgaste de esmalte dentário na face oclusal e palatina por erosão, com início de exposição da superfície dentinária. Nota-se a borda em esmalte na região cervical, bem característica da evolução da erosão dentária (Fotografia gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Júlio C. F. Almeida)

Com o avanço dos estudos sobre a erosão dentária, a literatura evidenciou os principais fatores etiológicos erosivos e a relação com os diversos substratos dentários e/ou restauradores (MEURMAN; DRYSDALE; FRANK, 1991; GRANDO et al., 1996; MEURMAN; TEN CATE, 1996; MEURMAN, 2000; GREGG et al., 2003; BADRA et al., 2005; RIOS et al., 2006a; GANSS et al., 2007; FRANCISCONI et al., 2008; HONÓRIO et al., 2008; LUSSI; JAEGG, 2008; GANSS et al., 2009; WILDER-SMITH et al., 2009; HONÓRIO et al., 2010; TORRES et al., 2010). Inicialmente, podemos considerar que a erosão pode ser provocada por fatores intrínsecos ou extrínsecos (ZERO, 1996; JENSDOTTIR et al., 2004; AMAECHI, HIGHAM, 2005; TAHMASSEBI et al., 2006).

Dentre os fatores extrínsecos envolvidos, destacam-se a ingestão de bebidas como refrigerantes e produtos alcoólicos (CHAN; FULLER; HORMATI, 1980; WILTSHIRE; LABUSCHAGNE, 1990; MEURMAN, 2000; JENSDOTTIR et al., 2004; SANTOS et al., 2005; HARA; ZERO, 2008; RIOS et al., 2008), solventes presentes nos alimentos (BAGHERI; BURROW; TYAS, 2005; YAP et al., 2005). O fator ocupacional também pode permitir a exposição de grupo de pessoas ao risco de erosão ácida (JOHANSSON et al., 2005; WIEGAND et al., 2007).

Quanto à erosão, devido a fatores intrínsecos, indivíduos que apresentam regurgitamento de suco gástrico proveniente de distúrbios gastrintestinais (BARTLETT, 2005; GUDMUNDSSON et al., 2005), como nos casos de bulimia, anorexia, refluxo estomacal ou outros distúrbios digestivos são mais suscetíveis, pois uma considerável produção ácida é revertida para a cavidade bucal (STEGE, VISCO-DANGLER; RYE, 1982; GUDMUNDSSON et al., 1995; MEURMAN; TEN CATE, 1996; BARTLETT, 2005; ZERO; LUSSI, 2005).

A anorexia nervosa foi primeiramente descrita em 1689 e definida em 1868 (CLARK, 1985). Esta doença acomete principalmente mulheres jovens, sendo caracterizada por um medo mórbido de ganho de peso e compulsiva atividade física, com uma distorcida imagem do corpo. Em 20 a 50% desses pacientes, associa-se a bulimia.

Dentre as manifestações bucais dessas duas doenças, observa-se principalmente a erosão do esmalte dentário, a qual é resultante da regurgitação do conteúdo gástrico (JENSDOTTIR et al., 2004). Tal erosão só é observada depois de decorridos pelo menos dois anos do hábito, sendo relatada como a manifestação

mais óbvia da bulimia. Nesses casos, a erosão é observada principalmente nas superfícies palatinas dos dentes anteriores e na superfície oclusal dos dentes posteriores, localização intimamente relacionada à ação da língua sobre os dentes (GREGG et al., 2004). A quantidade de erosão relaciona-se diretamente com a frequência e extensão da regurgitação e com o índice de acidez do conteúdo gástrico. Esses fatores dependem do tipo de comida e do tempo decorrido da ingestão até o vômito. Além disso, a higiene bucal do paciente após o vômito pode acentuar o desgaste (SCALCO et al., 2005; VORONETS; LUSSI, 2010).

Em relação aos fatores etiológicos extrínsecos que provocam a erosão, em uma ampla revisão apresentada por Tahmassebi et al. (2006), vários estudos apontam um crescimento de consumo de bebidas com baixo pH, o qual se inicia já nos primeiros anos de vida, reforçando a exposição dos dentes decíduos e permanentes a condições que favorecem o estabelecimento de erosão dentária.

O *marketing* desses produtos, aliado a idéia de saúde e energia, além do menor risco de contaminação por serem previamente tratados e embalados, reforça o seu consumo. Tahmassebi et al. (2006) chamam a atenção de que a facilidade de adquirir esses produtos também contribui nesse processo.

Devido a essa realidade, esses quadros devem ser cuidadosamente avaliados na tentativa de reduzir danos maiores com ações estratégicas de prevenção, controle e tratamento (LAMBRECHTS et al., 1996; AMAECHI; HIGHAM, 2005; BARTLETT, 2005; BAVBEK et al., 2005; RIOS et al., 2006b; MAGALHÃES et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2009b; REIS et al.; 2009).

Apesar do paciente procurar por tratamento dentário diante do diagnóstico de erosão, os hábitos ou distúrbios responsáveis pelo seu desenvolvimento muitas vezes permanecem (LAMBRECHTS et al., 1996; AZIZ; ZIEBERT; COBB, 2005; BAVBEK et al., 2005; SCALCO et al., 2005). Dessa forma, o desafio químico ainda se faz presente e os substratos dentários e materiais restauradores são expostos a essa adversidade, devendo oferecer resistência a esse processo de desgaste (BADRA et al., 2005; FRANCISCONI et al., 2008; HONÓRIO et al., 2008; LUSSI; JAEGG, 2008; RIOS et al., 2008; GANSS et al., 2009; WILDER-SMITH et al., 2009; HONÓRIO et al., 2010; TORRES et al., 2010).

A ação erosiva, independente da etiologia de fatores locais ou sistêmicos, pode ser modulada de acordo com a associação de outros aspectos, destacando-se a ação da saliva (JENSDOTTIR et al., 2004; HARA et al., 2006; RIOS et al., 2006b; HARA et al., 2008).

A saliva tem sido reportada como um importante fator modificador das erosões dentárias (AMAECHI; HIGHAM, 2005; AZIZ; ZIEBERT; COBB, 2005; HARA et al., 2006; RIOS et al., 2006b; HARA et al., 2008). A saliva pode produzir uma defesa ao participar da formação de película adquirida, que atua como uma barreira protetora (HANNIG; BALZ, 1999, HANNIG et al., 2004; HARA et al., 2006; WIEGAND et al., 2008a, HONÓRIO et al., 2010).

Devido ao relevante papel da saliva na dinâmica do desenvolvimento da erosão, estudos sobre este tema deveriam simular sua ação de forma mais próxima possível da realidade. O modelo experimental *in situ* posiciona-se entre as limitações das investigações laboratoriais e as dificuldades dos trabalhos clínicos (FEATHERSTONE; ZERO, 1992; ZERO, 1995; FEATHERSTONE, 1996; RIOS et al., 2009; WANG et al., 2010). A maior vantagem desse modelo de estudo é a utilização da cavidade bucal humana, podendo, entretanto realizar o controle de certos fatores que poderiam afetar a amostra, como por exemplo, a dieta e a higienização (FEATHERSTONE; ZERO, 1992; ZERO, 1995; FEATHERSTONE, 1996; HONÓRIO et al., 2010). Além disso, requer um tempo relativamente curto com custo reduzido comparado aos trabalhos clínicos.

Ainda com relação ao papel da saliva, a diminuição do pH salivar e as alterações da sua capacidade tampão e da viscosidade influenciam diretamente a severidade das lesões erosivas. Embora no trabalho de Gudmundsson et al. (1995) não tenha sido observada uma relação direta entre baixo pH e erosão dentária, estando essa alteração mais ligada à capacidade tampão da saliva, estudos relacionando o pH salivar, o índice de placa palatal, a concentração de íons na saliva e a análise microbiológica em pacientes com anorexia e bulimia não demonstraram alterações na química salivar, mas evidenciaram maior acidez na saliva (LIEW et al., 1991; TYLENDÁ et al., 1991).

O pH salivar pode ser atribuído ao consumo de bebidas ácidas. Um dos focos, na tentativa de controlar o potencial erosivo dos produtos líquidos ácidos, é por meio de aditivos como, íons cálcio e fosfato, ferro e mesmo o flúor

(TAHMASSEBI et al., 2006; HARA; ZERO, 2008; MAGALHÃES et al., 2009a). As principais limitações se deparam na dificuldade de dosagem ideal para que cumpra essa função sem alterar propriedades de sabor e textura da bebida.

Ainda quanto às estratégias de se minimizar a erosão, estudos como de Johansson et al. (2004), sugerem que métodos de ingestão de líquidos que levem a um menor contato com os dentes seriam interessantes, reduzindo o contato com a estrutura dentária. Dessa forma, o uso de canudos e goles curtos e rápidos são os mais indicados quando se faz uso de bebidas com potencial erosivo.

Amaechi e Higham (2005) em uma extensa revisão que aborda aspectos de causas da erosão e estratégias de seu controle concordam com os itens mencionados nesse capítulo e destacam, ainda, uma alternativa na redução da ação erosiva de bebidas por meio de ingestão posterior imediata de produtos não erosivos como água e leite.

A ingestão de produtos ácidos ou com potencial erosivo é significativa, sendo preciso divulgar mais amplamente os riscos que tais produtos podem causar bem como os cuidados na prevenção dos malefícios. Entretanto, é certo que alterações na estrutura dentária vão ocorrendo e aumentando com o tempo por essa razão. Esse prejuízo tem início no esmalte dentário (RIOS et al., 2006a, TORRES et al., 2010). Por interferir na função e na estética, muitos pacientes podem não deixar o hábito, porém, por se sentirem incomodados, procuram profissionais para o tratamento do dente que foi desgastado (SCALCO et al., 2005).

Ao planejar o tratamento de lesões provocadas por erosão, o conhecimento do substrato modificado se faz necessário para que se possibilite maior qualidade e durabilidade dos tratamentos propostos (LAMBRECHT et al., 1996; CANDENARO et al., 2008; ENGLE et al., 2010).

Em estudos de erosão e adesão, o substrato dentário utilizado é normalmente de natureza humana ou bovina (TEN CATE; VAN DE PLASSCHE-SIMONS; VAN STRIJP, 1992; ZERO, 1995; WANG et al., 2010). Ten Cate, Van de Plassche-Simons e Van Strijp (1992) e Zero (1995) alertam quanto ao aspecto mais poroso do esmalte bovino. Entretanto, Mannin e Edgar (1992), apontam que, apesar desse aspecto, o substrato bovino é mais homogêneo. Koulourides e Chien (1992), através de análise de microdureza, não encontraram diferenças significantes entre o

esmalte humano e o bovino. Recentemente, Salz e Bock (2010) também reforçaram a possibilidade de uso do substrato bovino para os testes de adesão.

De forma geral, o esmalte dentário caracteriza-se como o tecido mais ricamente mineralizado do organismo humano, sendo composto de 97% por minerais e 3% por matriz orgânica e água em peso (MINE et al., 2010). As diferentes observações desse tecido, até algum tempo atrás, o caracterizavam como um tecido extremamente organizado em forma de prisma, com aspecto hexagonal, intercalado por aparentes espaços denominados de espaços interprismáticos, permeado por um líquido (MINE et al., 2010). O aspecto visual remetia-o a uma forma de sistema chave/fechadura. Estudos mais recentes, aplicando recursos capazes de ampliar a visualização desse tecido, revelaram aspectos em nanoescala, permitindo desvendar maior riqueza de detalhes (CUI; GE, 2007; MINE et al., 2010).

Uma proposta interessante em 7 níveis hierárquicos para a organização estrutural do esmalte foi apresentado por Cui e Ge (2007), conforme demonstrado na Figura 3.

Figura 3 - Esquema representativo da hierarquia estrutural do tecido de esmalte dentário, proposto por Cui e Ge 2007, da ordem de nanoescala até a microescala (CUI; GE, 2007)

O nível 1 seria composto por cristais de hidroxiapatita, que formam as nanofibrilas (nível 2). Estas, por sua vez, se alinham longitudinalmente em fibrilas (nível 3) que se agrupam formando conjuntos mais espessos, as fibras (nível 4). Estes conjuntos caracterizam a próxima organização denominada prisma/ espaço interprismático, constituindo-se no nível 5. Na microescala, os prismas se arranjam

em bandas (nível 6), que se apresentam direcionados distintamente na camada de esmalte (nível 7).

Uma disposição organizacional similar ao que ocorre ao tecido ósseo é revelada. Essa característica hierárquica continua a ser foco de estudo para melhor compreensão das relações mecânico estruturais de cada nível.

Dessas observações, podemos destacar o ponto de partida, em que os cristais inicialmente se alinham no longo eixo e na sequência em largura e espessura constituindo as nanofibrilas. Outra relevante observação diz respeito aos espaços interprismáticos. Estes, na realidade, aparentam-se margeando os prismas, por serem constituídos pelas fibras em um direcionamento diferente do que ocorre longitudinalmente nos prismas. Conforme esses feixes de fibras se distanciam do centro do núcleo prismático, determinam diferentes aspectos.

Esse rico conjunto de informações revelam, ultraestruturalmente, o tecido que foi inicialmente utilizado como substrato do processo adesivo na Odontologia restauradora adesiva. Preconizada por Buonocore (1955), o esmalte, por ser ricamente constituído por mineral, deveria ser condicionado com ácido ortofosfórico a 50%, a fim de remover minerais suficientes, para serem posteriormente preenchidos pela infiltração de um adesivo à base de monômeros resinosos. Assim, estabeleceu-se a base do mecanismo de embricamento micromecânico que fundamenta a adesão (BUONOCORE, 1955; GWINNETT; MATSUI, 1967). Os sistemas adesivos, inicialmente comercializados, eram constituídos por monômeros hidrofóbicos, como o BisGMA, uma vez que suas características eram compatíveis com o esmalte.

Esse conceito passou, ao longo das últimas décadas, a ser também aplicado ao substrato dentinário, uma vez que há a presença de dentina exposta na grande maioria dos procedimentos restauradores (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998; PASHLEY; TAY, 2001). Devido à grande diferença estrutural com o esmalte, o tempo de condicionamento ácido e a composição do adesivo por monômeros hidrofóbicos mostraram-se incompatíveis, levando a uma reformulação para ser utilizado em dentina. Assim, o tempo de condicionamento ácido foi reduzido para metade do tempo aplicado em esmalte, uma vez que a dentina é composta por menor quantidade de minerais, proporcionalmente. Ainda, os monômeros passaram a ser mais hidrofílicos para alcançar afinidade com a característica úmida da dentina

(KANCA, 1992; FABRE et al., 2007; NIHI et al., 2009; GARCIA et al., 2010a; GARCIA et al., 2010b). Nesse sentido, houve a necessidade da incorporação de um passo prévio à aplicação do adesivo propriamente dito, denominado *primer*, que é o responsável por oferecer a característica de molhamento, preparando o contato com o monômero resinoso. Para essa função, a incorporação de solventes orgânicos tornou-se necessária (FABRE et al., 2007; NIHI et al., 2009; GARCIA et al., 2010a; GARCIA et al., 2010b). Uma vez que a restauração de dentina comumente envolve a presença de esmalte, o uso desses sistemas adesivos dentinários é aplicado em ambos os substratos.

A partir dessas modificações, os sistemas adesivos foram caracterizados por apresentarem classicamente 3 passos: 1- condicionamento ácido, 2- *primer* e 3- adesivo, visando a atender as características particulares da dentina (VAN MEERBEEK et al., 2003).

Em seguida, foram desenvolvidos sistemas adesivos com a associação de passos, na tentativa de simplificar a técnica, tornando-a menos sensível. Assim, após o condicionamento ácido, é feita a aplicação de um único produto com os passos de *primer* e adesivo. Esses sistemas que requerem o condicionamento ácido prévio à aplicação do adesivo são denominados sistemas adesivos convencionais.

Outros sistemas foram desenvolvidos, baseados no conceito de condicionamento simultâneo à aplicação do *primer* e/ou adesivo, constituindo os sistemas autocondicionantes, de dois ou de um passo. Nesses sistemas, o ácido não é removido como nos sistemas convencionais, e por isso, sua ação se torna mais limitada. Essa característica vem se revelando promissora quando utilizada em dentina, porém passou a se mostrar limitada para um satisfatório condicionamento em esmalte (PERDIGÃO; GERALDELI, 2003; VAN MEERBEEK et al., 2003; CEHRELI; EMINKAHYAGIL, 2006; WATANABE et al., 2008).

A acidez dos monômeros presentes nos sistemas autocondicionantes passou a ser foco de avaliação. A associação ao condicionamento ácido convencional com ácido fosfórico a 37%, em um tempo menor ao utilizado com os sistemas convencionais, passou a ser preconizada como uma alternativa na busca por uma melhor interação do produto resinoso ao esmalte (MINE et al., 2010). Os monômeros dos sistemas autocondicionantes disponibilizam íons de hidrogênio, mas que são neutralizados pela *smear* de esmalte resultante do preparo da

superfície, antes mesmo de alcançarem a superfície intacta abaixo, o que limita sua ação desmineralizante (MINE et al., 2010). Atualmente, esses sistemas autocondicionantes são categorizados em função de sua acidez, como indicativo de seu poder desmineralizante, em leve, moderado e agressivo (CEHRELI; EMINKAHYAGIL, 2006; WATANABE et al., 2008; MINE et al., 2010). Quanto menor o pH e, portanto, maior a acidez, maior a agressividade e maior o potencial de desmineralização, apesar de haver controvérsias. Nessa condição de uso, a adesão ao esmalte não preparado parece ocorrer por uma interação química com a hidroxiapatita, segundo alguns autores como Yoshida et al. (2004). Ainda pelas observações de Mine et al. (2010), por meio de microscopia eletrônica de transmissão, o uso de sistema autocondicionante leve não é capaz de produzir zonas de desmineralização suficientes em esmalte após o uso de diferentes condições de preparo mecânico (sem corte, com lixa ou com uso de ponta diamantada). Quando há áreas mais profundamente infiltradas por este sistema, essas foram atribuídas aos defeitos estruturais do esmalte, decorrentes do preparo. Assim, o embricamento mecânico do adesivo resinoso seria mais dependente da receptividade estrutural da superfície, que se mostrou mais favorável para todas as condições, se associado ao uso prévio de ácido fosfórico. Ainda, a interação ao esmalte é bastante variável em função da rugosidade superficial do esmalte aderido e espessura da *smear layer* em função do preparo mecânico do substrato realizado de formas distintas. Adicionalmente, diferentes tratamentos podem determinar diferentes energias de superfície, favorecendo ou não a interação entre sistema adesivo e esmalte (TSUJIMOTO et al., 2010).

Considerando a importância das características apresentadas, apesar de o esmalte dentário se apresentar homogêneo, este é modificado em desafios químicos como a erosão no caso de dentes clareados e em contato com ácidos de alimentos. Há inúmeros trabalhos na literatura que abordam essa preocupação, quanto ao substrato após o desafio e as implicações que o clareamento poderia apresentar para o tratamento adesivo (CAVALLI; GIANNINI; CARVALHO, 2004; PINTO et al., 2004). O mesmo raciocínio pode ser transportado para o substrato que foi quimicamente desafiado por erosão, e por isso, o estudo do comportamento do tratamento restaurador adesivo sobre este substrato também deve ser analisado, visando a maior durabilidade.

Assim, torna-se relevante analisar como o substrato erodido se comporta após o tratamento restaurador e se o mesmo apresenta modificações que possam alterar o tratamento proposto.

Muitos se propuseram a detectar a ação de produtos externos erosivos sobre os tecidos dentários, bem como sobre os materiais restauradores na boca, muitos estudos se propuseram a essa finalidade. Estudos como de Chan, Fuller e Hormati (1980), Ameye, Lambrechts e Vanheler (1981), Lambrechts et al. (1996), Badra et al. (2005), Santos et al. (2005) e Rios et al. (2008) detectaram influências negativas.

Para a análise dos efeitos da erosão sobre a estrutura dentária e ou materiais restauradores, diferentes metodologias são propostas, sendo a microdureza superficial bastante aplicada quando há erosão inicial, ou melhor, a superfície se encontra amolecida. Entretanto em estágios avançados é preciso analisar o desgaste das lesões erosivas, sendo a perfilometria bastante utilizada (RIOS et al., 2009a; RIOS et al., 2009b; HONÓRIO et al., 2010; STENHAGEN, 2010).

Diante do cenário de erosão dentária e a disponibilidade de condições de avaliação extrabucal desse evento, a análise de resistência de união é bastante interessante, visto que muitas vezes estas superfícies são restauradas com uso de material adesivo (SCALCO et al., 2005; REIS et al., 2009).

Dessa forma, a microtração tem sido o teste mais específico para esse tipo de análise (SANO et al., 1994; CARVALHO et al., 2001; D'ALPINO et al., 2006b). Com a obtenção de espécimes mais reduzidos, a distribuição de forças ocorreria de forma mais homogênea, possibilitando uma reprodução mais fiel dessa dinâmica (SANO et al., 1994).

Considerando que modificações estruturais dos substratos dentários decorrem do processo erosivo e, apesar de estudos apontarem essas consequências, não há relatos relacionando essas modificações estruturais do esmalte com a resistência de união aos sistemas adesivos.

3

Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi analisar a influência de diferentes condições de esmalte dentário na união de distintos sistemas adesivos à superfícies de esmalte após ciclagem *in vitro* e *in situ/ex vivo* de erosão provocadas por bebidas a base de cola. As hipóteses nulas testadas foram estas: 1- Não há diferença na resistência adesiva ao esmalte normal ou erodido (associado ou não à abrasão); 2- Não há diferença na resistência adesiva ao esmalte erodido em função do sistema adesivo utilizado.

4

Material *e Métodos*

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi desenvolvido em 3 etapas, das quais duas foram realizadas *in vitro* e uma *in situ*. Inicialmente, foi necessária a validação da formação de lesões artificiais de erosão em estágios iniciais, por meio de testes de microdureza superficial e perfilometria. A seguir, na primeira etapa avaliou-se o efeito da erosão, provocada por três diferentes tipos de refrigerantes a base de cola, associado ou não à abrasão, na adesão do esmalte. Os fatores em estudo foram tipo de agente erosivo (em quatro níveis: saliva artificial - controle negativo, Coca-Cola regular, Coca Light e Coca Zero) e a associação ao efeito de escovação (em dois níveis: sem ou associado). As variáveis de resposta foram análise de resistência adesiva por microtração, microscopia óptica e microscopia de varredura a laser confocal. Na segunda etapa, em modelo *in vitro* e na terceira etapa, com modelo *in situ/ex vivo* foi avaliado o desempenho de diferentes sistemas adesivos utilizados na restauração de esmalte previamente erodido/abrasionado por refrigerante tipo cola regular. Os fatores estudados foram sistema adesivo (em três níveis: convencional de três passos, convencional de dois passos e autocondicionante de 2 passos) e desafio químico/mecânico (em quatro níveis para o estudo *in vitro*: erosão por 1 dia, erosão por 5 dias, erosão por 1 dia seguido de abrasão e erosão por 5 dias seguido de abrasão; e quatro outros níveis para o estudo *in situ*: controle negativo- sem nenhum desafio, erosão em Coca-Cola, erosão seguida de abrasão por escovação e apenas abrasão). Em ambas as etapas as variáveis de resposta foram análise de resistência adesiva por microtração e microscopia óptica.

4.2 PREPARO DO ESPÉCIME

4.2.1 Seleção e Preparo dos Blocos de Dentes Bovinos

Para as diferentes etapas deste estudo, foram utilizados incisivos bovinos extraídos e armazenados em recipientes contendo solução de timol a 0,1% em

temperatura ambiente. Os dentes foram extraídos de animais de raça nelore os quais, no momento do abate, teriam por volta de 36 meses de idade. Uma seleção inicial dos dentes a serem utilizados foi realizada, excluindo-se as unidades que apresentaram falhas grosseiras, como por exemplo, trincas, fraturas, hipocalcificações ou desgaste acentuado da porção incisal.

Foram realizados cortes transversais para promover a separação corono-radicular com um disco diamantado dupla face (Diaflex-F-PM 3/4-7/8, HORICO, Hopt, Ringleb e Cogmbh e Cie-Alemanha/Ref: H 358F220) acoplado a um torno (Nevoni, São Paulo, Brasil) com sistema de irrigação adaptado. As raízes foram desprezadas e as coroas foram rearmazenadas em solução renovada de timol a 0,1% em temperatura ambiente.

Após a remoção de remanescentes de tecido pulpar e periodontal, com o auxílio de espátula Le Cron (Duflex -SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil), as coroas foram submetidas à profilaxia utilizando-se escova de Robinson (KG Sorensen, Barueri, São Paulo) em baixa rotação (Kavo do Brasil S.A. Indústria e Comércio, Joinville, Brasil), com mistura de água deionizada e pedrapomes extrafina (SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil). Em seguida, foram lavadas em água deionizada e estocadas em recipientes de vidro contendo solução renovada de conservação.

Na sequência, as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corporation, made in USA) no canto inferior direito de uma pequena placa de acrílico cristal (40mm X 40mm X 5mm) para facilitar a adaptação na máquina de corte. A placa de acrílico foi acoplada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw (Bulher Ltda., Lake Bluff, IL, USA) e com o auxílio de dois discos diamantados dupla face (HighConcentrationDiamond. WaferingBlade-102 mm x0,3 mm x12,7 mm/ ExcetCorp.Enfield, CT,USA/Ref: 12205) e um espaçador de aço inoxidável (7cm de diâmetro, 4mm de espessura e orifício central de 1,3cm) entre os discos com velocidade de 300 rpm, refrigerado com água deionizada, foram obtidos os espécimes de esmalte bovino com 16mm² de área da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal. Esses fragmentos foram armazenados em recipientes plásticos e recobertos por gaze embebida em água deionizada em temperatura ambiente. Um vedamento adequado foi assegurado para permitir a conservação da umidade no interior do recipiente.

Com o uso de lupa, foi realizada uma análise final para a seleção dos fragmentos, excluindo-se aqueles que apresentassem defeitos estruturais como trincas ou manchas hipoplásicas.

4.2.2 Polimento do Esmalte de Dentes Bovinos

Inicialmente, realizou-se uma planificação da superfície de dentina, de maneira a obter superfícies de esmalte e dentina paralelas, apresentando uma espessura de aproximadamente 2 mm. Os blocos, com a superfície dentinária voltada para cima, foram fixados em discos de resina acrílica pré-fabricados (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com o auxílio de cera, sendo então levados à politriz APL-4 Arotec (Arotec, Cotia-SP, Brasil) para desgaste. Nesse processo, foram utilizadas lixas de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler, Lake Bluff, IL), 172g (2 pesos) durante, em média, 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração.

Em seguida, os blocos foram removidos e fixados novamente com a superfície do esmalte voltada para cima para o polimento e sob refrigeração constante de água de acordo com a seguinte sequência:

Lixa de granulação 600, 172 g, por 30 segundos, em média, em baixa velocidade;

Lixa de granulação 1200, 172 g, por 2 minutos, em média, em alta velocidade.

Entre cada polimento, os corpos-de-prova foram submetidos ao ultrassom (Ultrasonic Cleaner Mod. USC 750; Unique Ind. E Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., São Paulo-SP) em água deionizada durante 2 minutos. Ao final, as superfícies de esmalte foram polidas com papel feltro para polimento (Polishing Cloth Buehler, Lake Bluff, IL) e suspensão de diamante (Extec I Water based diamond permanent polishing suspension. Extec Corp., 1 micron 16.587) sob 172g por, aproximadamente, 2 minutos em alta rotação. Em seguida, foram lavados com jato de água deionizada por 30 segundos e submetidos ao ultrassom por 2 minutos.

Até o momento da análise de microdureza superficial inicial do esmalte, os fragmentos foram conservados em ambiente úmido, cobertos por gaze umedecida em água deionizada e refrigerados.

4.2.3 Análise de Microdureza Superficial do Esmalte

Para a análise de microdureza inicial das superfícies de esmalte, utilizou-se o microdurômetro SHIMADZU MICRO HARDNESS TESTER HMV-2.000 (Shimadzu Corporation - Kyoto-Japan) com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25gF com tempo de 5 segundos, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, USA).

Foram realizadas 5 indentações na superfície (Microdureza Superficial Inicial – MDSI), separadas entre si por uma distância de 100 μm . Foram selecionados os blocos que apresentaram microdureza média de aproximadamente 350 KHN, sendo descartados os demais. Esse protocolo visou a estabelecer um parâmetro para a seleção dos blocos, minimizando a variação existente entre os diferentes fragmentos.

4.3 VALIDAÇÃO DA FORMAÇÃO DE LESÕES ARTIFICIAIS DE EROSÃO

Seis espécimes para cada condição de desafio, ou seja, para cada refrigerante a base de cola (Coca-Cola regular, Coca Light e Coca Zero) foram preparados para serem analisados, quanto à microdureza superficial e à perda de estrutura por perfilometria, para atestar a validade do modelo experimental de criação de lesões artificiais de erosão. Para aumentar o poder de comparação, esses espécimes receberam duas camadas de esmalte para unha nas porções periféricas da superfície de esmalte, permitindo uma janela central de aproximadamente 1,0 mm, antes da ciclagem erosiva, para possibilitar a mensuração do desgaste. As áreas laterais protegidas com esmalte de unha serviram como áreas de referência para a determinação do desgaste. Após a realização dos desafios, essas superfícies foram lavadas, secadas e as camadas de esmalte de unha cuidadosamente removidas, expondo as áreas de referência (controle), que foram protegidas.

Na sequência, foi realizada a análise do desgaste da superfície a partir de um Rugosímetro Hommel Tester T 1000, acoplado a um software específico do equipamento o qual fornece os perfis das superfícies testadas para a quantificação do desgaste. Para cada fragmento, foram feitas três medições em diferentes áreas da interface entre esmalte hígido e esmalte erodido, sendo posteriormente feita a média. Os parâmetros selecionados foram:

Lt (limite de tracejamento): 1,5mm

Lc (limite de *cut-off*): 0,25mm

Os testes de microdureza seguiram os mesmos parâmetros previamente apresentados no item 4.2.3, sendo avaliada a microdureza de superfície das duas condições (desafiada e controle). A avaliação após o desafio foi calculada em porcentagem de alteração de microdureza: $(DI-DF)/DI \times 100$, onde DI= dureza inicial e DF= dureza final.

4.4 FASE EXPERIMENTAL *IN VITRO*

4.4.1 Avaliação da Influência de Diferentes Tipos de Refrigerantes Tipo Cola Como Agente Erosivo na Adesão ao Esmalte

Esse experimento foi realizado considerando-se dois fatores: tipo de agente erosivo (em quatro níveis: saliva artificial - controle negativo, Coca-Cola regular, Coca Light e Coca Zero) e a associação ao efeito de escovação (em dois níveis: sem ou associado).

As características dos agentes de imersão estão apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Composição dos agentes de imersão

Solução	Composição
Saliva Artificial	1,5 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,9 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150 mmol/L KCl, 0,1 mol/L $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ (TRIS), 0,05 µg/mL F (NaF)
Coca-Cola (CC)	Água gaseificada, xarope de frutose, corante caramelado, ácido fosfórico, aromatizantes naturais, cafeína, 23 mg; 8 fl oz, baixo teor de sódio
Coca Light (CL)	Água gaseificada, extrato de noz de cola, cafeína, aroma natural, corante caramelo IV, acidulante de ácido fosfórico, conservadores de sorbato de potássio, benzoato de sódio, edulcorantes artificiais: aspartame (24mg/100mL) e acessulfame de potássio (13mg/100mL)
Coca Zero (CZ)	Água gaseificada, extrato de noz de cola, cafeína, aroma natural, corante caramelo IV, acidulante de ácido fosfórico, edulcorantes artificiais: ciclamato de sódio (27mg/100mL) e acessulfame de potássio (15mg/100mL) aspartame (12mg/100mL), conservadores benzoato de potássio, regulador de acidez citrato de sódio. Contém fenilalanina.

4.4.1.1 Desafios Erosivos

Os desafios realizados estão apresentados no Quadro 2, utilizando-se 8 espécimes para cada condição analisada.

Quadro 2 - Grupos testados de acordo com os desafios erosivos/abrasivos

Grupo	Sem abrasão	Grupo	Seguido de abrasão (ABR)
C	Saliva artificial por 24 horas		-----
ERO-CC	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca-Cola regular, com intervalo de 6 horas. Entre os desafios, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas	ERO/ABR-CC	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca-Cola regular, seguido por abrasão por escovação por 1minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Entre os desafios, com intervalo de 6 horas, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas
ERO-CL	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca Light, com intervalo de 6 horas. Entre os desafios, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas	ERO/ABR-CL	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca Light, seguido por abrasão por escovação por 1minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Entre os desafios, com intervalo de 6 horas, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas
ERO-CZ	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca Zero, com intervalo de 6 horas. Entre os desafios, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas	ERO/ABR-CZ	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca Zero, seguido por abrasão por escovação por 1minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Entre os desafios, com intervalo de 6 horas, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas

ERO= erosão; ABR= abrasão; CC= Coca-Cola regular, CL= Coca Light; CZ= Coca Zero

4.4.1.2 Restauração das Superfícies de Esmalte e Obtenção de Palitos

Após cada um dos desafios propostos, os espécimes foram lavados em água deionizada, identificados e preparados para serem restaurados.

As superfícies de esmalte foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% por 30 segundos, e sequencialmente, lavados pelo mesmo tempo de aplicação do ácido. O sistema convencional de dois passos (Adper Single Bond 2) foi aplicado, seguindo a orientação do fabricante, em uma camada, facilitando a evaporação com leve jato de ar e fotoativando. A fotoativação foi efetuada de acordo com o tempo recomendado de 10 segundos, utilizando-se o aparelho Radi Cal, SDI, Austrália com intensidade de 1.000mW/cm^2 . Essa sequencia foi repetida.

Uma coroa de 4mm em altura de resina composta nanoparticulada (Filtek Z350-cor A2, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi confeccionada em incrementos de 1mm fotoativados por 20 segundos cada um, com o mesmo aparelho fotoativador. Um radiômetro específico foi utilizado para monitoramento do aparelho.

O conjunto fragmento dente-resina foi levado à máquina de corte, obtendo-se palitos em torno de 0,8-1mm de espessura.

Dessa forma, foram obtidos diversos espécimes constituídos de resina composta e esmalte, denominados palitos, unidos pela interface adesiva com área de seção transversal de aproximadamente $0,64$ a 1mm^2 .

4.4.1.3 Análise de Microtração

Os palitos foram individualmente fixados, pelas extremidades, ao dispositivo tipo BENCOR da máquina de testes universal EMIC DL 500 BF com um adesivo à base de cianocrilato (Super bonder Flex Gel Control, Loctite, São Paulo, SP, Brasil) associado ao agente acelerador e testados sob força de tração, perpendicular à interface adesiva, a uma velocidade de $0,5\text{ mm/min}$ até a ruptura do espécime. Após a fratura, os espécimes foram removidos do dispositivo de ensaio utilizando-se uma lâmina de bisturi nº 12. A área de secção transversal foi medida com um paquímetro

digital (Digimess, Panamba Industrial e Técnica S/A) até uma aproximação de 0,01 mm.

A tensão necessária para causar ruptura dos espécimes foi determinada pela razão entre a carga (Kgf) no momento da fratura e a área da seção transversa do espécime em cm². Os valores obtidos foram convertidos em MPa.

4.4.1.4 Análise de Microscopia Óptica

As superfícies fraturadas de ambos os segmentos de cada espécime foram analisadas com o auxílio de um microscópio digital (200x DINO-LITEplus digital microscope, AnMo Electronics Corporation, Hsinchu- China) para identificar o tipo de fratura resultante. As falhas foram classificadas em: falha adesiva (A), falha mista (M) ou falha coesiva em esmalte (CE) ou falha coesiva em resina (CR).

4.4.1.5 Análise de Microscopia de Varredura a Laser Confocal (MVLC)

Para ilustrar detalhes da camada híbrida, dois espécimes adicionais por grupo foram preparados, sendo metade da superfície protegida com duas camadas de esmalte para unha para servir como referência aos mesmos desafios químicos/mecânicos propostos. Para tanto, foi necessário preparar o sistema adesivo (Single Bond 2) utilizado na adesão, com rodamina B (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil) na proporção de 0,16mg/mL, como agente fluorescente para ser detectado na análise de MVLC (D'ALPINO et al., 2006a). Na sequência, as amostras restauradas foram cortadas ao meio com disco de corte diamantado em máquina de corte digital (Isomet 100, Buehler, Chicago, IL, USA) para obtenção de duas metades, contendo a área controle e desafiada, sendo essas interfaces analisadas em microscopia confocal (Leica TCS SPE, Leica Microsystems CMS, Mannheim, Alemanha) utilizando-se o software de microscopia (Leica Application Suite Advanced Fluorescence, Leica Microsystems CMS). A qualidade da interface foi analisada em ambas as metades com aumento de 40X (each 1.0 °— 1.0 mm, 1,024 pixels and 0.976 µm in resolution).

4.4.1.6 Análise Estatística

A análise estatística dos dados coletados foi realizada, utilizando-se o pacote Graph Pad/ Prisma. Uma vez que os dados apresentaram distribuição normal para todas as variáveis, foram aplicados o teste de ANOVA a dois critérios (tipo de solução x desafio químico/mecânico) e o teste de Bonferroni para as análises de comparação múltipla, ambos com nível de significância de 5%.

4.4.2 Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasionado por Coca-Cola Regular em Modelo *In Vitro*

Esse experimento foi realizado considerando-se dois fatores: sistema adesivo (em três níveis: convencional de três passos, convencional de dois passos e autocondicionante de 2 passos) e desafio químico/mecânico (em quatro níveis: erosão por 1 dia, erosão por 5 dias, erosão por 1 dia seguido de abrasão e erosão por 5 dias seguido de abrasão).

4.4.2.1 Desafios Erosivos

As características dos agentes de imersão estão apresentadas no Quadro 1.

Os desafios realizados nessa etapa estão apresentados no Quadro 3, utilizando-se 8 espécimes em cada condição analisada.

Quadro 3 - Grupos testados de acordo com os desafios erosivos/abrasivos *in vitro*

Grupo	Sem abrasão	Grupo	Seguido de abrasão (ABR)
C	Saliva artificial por 24 horas		-----
ERO-1D	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca-Cola regular, com intervalo de 6 horas. Entre os desafios, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas	ERO/ABR-5D	Imersão de 3x/1min/1dia em Coca-Cola regular, seguido por abrasão por escovação por 1minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Entre os desafios, com intervalos de 6 horas, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas
ERO-5D	Imersão de 3x/1min/5dias em Coca-Cola regular, com intervalo de 6 horas. Entre os desafios, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas	ERO/ABR-5D	Imersão de 3x/1min/5dias em Coca-Cola regular, seguido por abrasão por escovação por 1minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Entre os desafios, com intervalos de 6 horas, os espécimes foram mantidos em saliva artificial, completando 24 horas

4.4.2.2 Restauração das Superfícies de Esmalte e Obtenção de Palitos

Após cada um dos desafios propostos, os espécimes restaurados de acordo com a mesma sequência de cuidados apresentados no item 4.4.1.2. Entretanto, nessa etapa, dois novos sistemas adesivos foram utilizados.

O Quadro 4 apresenta as características dos três sistemas adesivos aplicados.

Quadro 4 - Sistemas adesivos utilizados na reconstrução adesiva

Sistema adesivo	Composição	Classificação
SBMP Adper Scotchbond Multi-Purpose (Primer) (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) Adper Scotchbond Multi-Purpose (Adesivo) (3M ESPE, St Paul, MN, EUA)	HEMA(2-hidroxietilmetacrilato), ácido polialcenóico, água Bis-GMA (Bilglicidil metacrilato), iniciadores, estabilizadores	Convencional- 3 passos
SB Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA)	Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos, ácido polialcenóico, sílica, iniciadores, etanol e água	Convencional- 2 passos
CSE Clearfil SE Bond (Kuraray Co. Ltda., Osaka, Japan)	<i>Primer:</i> MDP (10-Metacriloiloxidecil dihidrogênio fosfato), HEMA, monômeros dimetacrilatos, água e fotoiniciadores <i>Adesivo:</i> MDP, HEMA, monômeros dimetacrilatos, carga (micro) e fotoiniciador	Autocondicionante- 2 passos

O sistema SBMP foi utilizado conforme as instruções do fabricante. Após condicionamento da superfície de esmalte com ácido fosfórico a 37% por 30 s, esta foi lavada pelo mesmo tempo de aplicação e secada com papel absorvente. Em seguida, realizou-se a aplicação do *primer* e promoveu-se a facilitação da evaporação do solvente. O adesivo foi aplicado e também levemente evaporado com jato de ar leve, sendo fotoativado por 10 segundos, utilizando-se o mesmo aparelho de fotoativação LED descrito no item 4.4.1.2.

O sistema SB foi aplicado seguindo-se as instruções do fabricante (também descritos no item 4.4.1.2).

O sistema Clearfil SE Bond foi aplicado de acordo com a recomendação específica para superfícies de esmalte, sendo recomendado o uso associado de condicionamento da superfície de esmalte com ácido fosfórico a 37% por 10 segundos, sendo este lavado a seguir. A aplicação do *primer* ácido foi realizada por

20 segundos, seguida da aplicação de um leve jato de ar e fotoativado subsequentemente. Por fim, a camada do adesivo foi aplicada, sendo levemente evaporada com jato de ar e fotoativada por 10 segundos.

A confecção da restauração propriamente dita seguiu exatamente o descrito no item 4.4.1.2.

4.4.2.3 Análise de Microtração

Os palitos foram testados exatamente como descrito no item 4.4.1.3.

4.4.2.4 Análise de Microscopia Óptica

As superfícies fraturadas de ambos os segmentos de cada espécime foram analisadas conforme descrito no item 4.4.1.4.

4.4.2.5 Análise Estatística

A análise estatística dos dados coletados foi realizada utilizando-se o pacote Graph Pad/ Prisma. Uma vez que os dados apresentaram distribuição normal para todas as variáveis, foram aplicados o teste de ANOVA a dois critérios (tipo de sistema adesivo x desafio químico/mecânico) e o teste de Bonferroni para as análises de comparação múltipla, ambos com nível de significância de 5%.

4.5 FASE EXPERIMENTAL *IN SITU/ EX VIVO*

4.5.1 **Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasado por Coca-Cola Regular em Modelo *In Situ/ Ex Vivo***

Esse experimento foi realizado considerando-se dois fatores: sistema adesivo (em três níveis: convencional de três passos, convencional de dois passos e autocondicionante de 2 passos) e desafio químico/mecânico (em quatro níveis: controle negativo- sem nenhum desafio, erosão em Coca-Cola, erosão seguida de abrasão por escovação e apenas abrasão).

4.5.1.1 Seleção dos Voluntários

O projeto foi inicialmente encaminhado à avaliação do Comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru, juntamente com a carta de informação ao voluntário e consentimento livre e esclarecido, bem como as instruções a serem seguidas, tendo sido aprovado (102/2008),

De acordo com os critérios de elegibilidade, os participantes apresentavam bom estado de higiene bucal e geral. Nessa seleção foram aplicados critérios baseados no trabalho de FEATHERSTONE; ZERO (1992), sendo considerados os seguintes parâmetros como critérios de exclusão: presença lesões de cárie ativa, doença periodontal e lesões de desgaste, uso de antibióticos ou medicamentos com efeitos de hipossalivação e índice de placa. Os critérios de inclusão envolviam, sobretudo, aspectos relacionados a uma satisfatória disponibilidade para realizar os desafios de forma adequada. Os participantes também deveriam apresentar idade mínima de 18 anos, ter boa condição de higiene bucal e condição salivar de fluxo mínimo de 0,7 ml/min e capacidade tampão mínimo de 7.

Foram assim, selecionados 18 participantes de ambos os gêneros, com idade entre 18 e 28 anos.

4.5.1.2 Confeção dos Dispositivos Intrabucais Palatinos

Os voluntários foram submetidos à moldagem da arcada superior com alginato (Jeltrate Plus, Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) para a obtenção dos modelos de gesso (Densite, Herpo Produtos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os dispositivos intrabucais palatinos de resina acrílica foram confeccionados a partir de cada modelo. Em cada dispositivo foram preparadas 4 cavidades de 10 x 5 x 2,5 mm, sendo 2 de cada lado, nas quais os blocos dentários foram cuidadosamente fixados em dupla, pela base, com uma pequena quantidade de cera pegajosa, evitando a formação de espaços retentivos indesejáveis para o acúmulo de placa. Os blocos de esmalte foram inseridos no mesmo nível do dispositivo palatino.

4.5.1.3 Fase Experimental

Antes de iniciar a fase experimental, os voluntários receberam informações e orientações por escrito sobre a participação na pesquisa e assinaram um termo de consentimento de acordo com o procedimento requerido pelo Comitê de Ética, segundo a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, publicada no Diário Oficial, no dia 09/10/1996, Brasília.

O modelo experimental executado foi explicado a cada voluntário, sendo detalhado pessoalmente e simulado antes do início do desafio propriamente dito.

O experimento teve início após 12 horas de utilização do aparelho intrabucal, para que houvesse a formação da película adquirida. Durante os 5 dias do experimento, os voluntários foram orientados a utilizar o dispositivo intrabucal continuamente, só os removendo para a realização de 4 refeições (café da manhã, almoço, lanche e jantar – 1h para cada uma), ocasião em que o dispositivo foi mantido no estojo plástico, envolto em gaze umedecida por água de abastecimento (Bauru – 0,7ppmF). Nesse mesmo intervalo, foi realizada a higienização bucal com o dentífrico padronizado fluoretado (Oral B, Pró saúde, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), sem o dispositivo. O experimento foi realizado 3 vezes ao dia, depois das três principais refeições (café da manhã, almoço e jantar).

Com a finalidade de se obter uma maior padronização da pesquisa, foi entregue a cada voluntário um conjunto contendo uma escova dentária e o dentífrico para a realização da higiene bucal.

Cada um dos participantes voluntários realizou o desafio erosivo/ abrasivo em ambiente extrabucal, conforme protocolo demonstrado no Quadro 5.

Quadro 5 - Grupos testados de acordo com os desafios erosivos/abrasivos *in situ/ex vivo*

Grupo	Sem abrasão	Grupo	Seguido de abrasão (ABR)
C	Sem desafio, apenas mantido na cavidade bucal por 5 dias	ABR	Abrasão por escovação por 1 minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Desafios realizados a cada 6 horas, permanecendo o restante do tempo na cavidade oral.
ERO	Imersão de 3x/5min/5dia em Coca-Cola regular, com intervalos de 6 horas. Entre os desafios, os espécimes foram mantidos na cavidade bucal	ERO/ABR	Imersão de 3x/5min/5dia em Coca-Cola regular, seguidos de abrasão por escovação por 1 minuto (Oral B Cross Action Power, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil), utilizando 1 gota de solução diluída 3:1 de pasta (Oral B, Oral B do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e água, em peso respectivamente. Desafios realizados a cada 6 horas, permanecendo o restante do tempo na cavidade oral

Para que fosse possível a realização de todos os tratamentos em uma única fase *in situ*, foi confeccionado um dispositivo em EVA, de acordo com Honório et al., 2008. Dessa forma, apenas um lado do aparelho, correspondente aos grupos ERO e ERO/ABR foi imerso no refrigerante tipo cola, 3 vezes ao dia durante 5 minutos,

enquanto os grupos C e ABR foram submetidos apenas à ação da saliva, durante a permanência do aparelho na cavidade bucal.

Para os grupos ABR e ERO/ABR, procedeu-se a escovação com o uso de escova elétrica (Cross action Power/Oral B, São Paulo-SP, Brasil) por 1 minuto em cada espécime, com solução de dentifrício (1:3) com flúor (1.100 ppm). Em seguida, foram enxaguados por 30 segundos com água de abastecimento, previamente ao retorno à cavidade bucal.

Esse ciclo foi seguido por 5 dias. A higienização do dispositivo intrabucal somente foi realizada na superfície interna, não sendo higienizada, portanto, a superfície que continha os blocos de esmalte.

A Figura 4 ilustra um fluxograma de sequência de desafio apresentado ao participante voluntário desse estudo.

1- Retire a placa da boca, e a prepare com a área anterior para cima	2- Posicione a placa na "boia" de EVA com a área anterior para fora. Apenas a parte posterior ficará imersa na Coca-Cola	3- Lave a placa abundantemente sempre posicionando a área anterior para cima, para não contaminar.	4- Agite o frasco de "slurry" e goteje uma gota em cada bloco.	5- Com a escova elétrica, escove a área anterior vermelha por 1 minuto.
6- Repita o procedimento 4 para a área posterior vermelha .	7- Lave a placa abundantemente, sempre posicionando a área anterior para cima, para não contaminar.	8- Com a higiene bucal realizada, retorne a placa em posição. Não coma ou beba com a placa na boca.	CUIDADO: Quando a placa não estiver na boca, deixe-a embebida em gaze umedecida no porta-aparelho.	

Figura 4 - Fluxograma da sequência dos desafios erosivos/ mecânicos do modelo experimental *in situ/ex vivo*

Cada voluntário preencheu um relatório diário, realizando anotações somente em caso de alguma ocorrência digna de nota.

4.5.1.4 Restauração das Superfícies de Esmalte e Obtenção de Palitos

Após cada um dos desafios propostos, os espécimes foram restaurados de acordo com a mesma sequência apresentada no item 4.4.1.2. Entretanto, nessa etapa, assim como no modelo *in vitro* apresentado no item 4.4.2, dois novos sistemas adesivos foram utilizados como apresentados no Quadro 4.

4.5.1.5 Análise de Microtração

Os palitos foram testados exatamente como descrito no item 4.4.1.3.

4.5.1.6 Análise de microscopia óptica

As superfícies fraturadas de ambos os segmentos de cada espécime foram analisadas conforme descrito no item 4.4.1.4.

4.4.1.7 Análise Estatística

A análise estatística dos dados coletados foi realizada, utilizando-se o pacote Graph Pad/ Prisma. Uma vez que os dados apresentaram distribuição normal para todas as variáveis, foram aplicados o teste de ANOVA a dois critérios (tipo de sistema adesivo x desafio químico/mecânico) e o teste de Bonferroni para as análises de comparação múltipla, ambos com nível de significância de 5%.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 VALIDAÇÃO DO TESTE

Os valores de média e desvio-padrão de desgaste de esmalte (μm) após erosão/ abrasão são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de média e desvio-padrão de desgaste de esmalte (μm) após erosão/abrasão

	ERO-CC	ERO-CL	ERO-CZ
Sem abrasão	0,36 (0,06) Aa	0,24 (0,13) Ba	0,18 (0,03) Ba
Com abrasão(ABR)	0,33 (0,02) Aa	0,29 (0,12) ABa	0,16 (0,02) Ba

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre colunas ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre os tratamentos entre linhas ($p < 0,05$)

N=6

A Figura 5 ilustra comparativamente o grau de desgaste de esmalte provocado pelas diferentes bebidas nas condições erodidas e erodidas/abrasionadas respectivamente

Figura 5 - Gráfico comparativo de desgaste de esmalte (μm) após erosão provocada por bebidas à base de cola, seguida ou não por abrasão por escovação

Na análise da validação por desgaste, houve diferença da quantidade de esmalte desgastado entre os grupos desafiados por Coca-Cola regular e as demais cocas (Light e Zero), na condição apenas de erosão ($p < 0,05$). Quando seguida por abrasão, houve apenas diferença significativa entre a Coca-Cola com a Coca Zero ($p < 0,01$). Para nenhuma das bebidas testadas, houve diferença entre a condição sem ou com a associação à abrasão ($p > 0,05$).

Os valores de média e desvio-padrão de perda de dureza em esmalte (%) após erosão/ abrasão são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de média e desvio padrão de perda de dureza em esmalte (%) após erosão/abrasão

	ERO-CC	ERO-CL	ERO-CZ
Sem abrasão	28,74 (4,18) Aa	32,90 (5,02) Aa	11,67 (8,71) Ba
Com abrasão(ABR)	37,70 (7,09) Ab	33,89 (5,34) Aa	12,06 (4,42) Ba

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre colunas ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre os tratamentos entre linhas ($p < 0,05$)

N=6

A Figura 6 ilustra comparativamente a perda de dureza em esmalte (%) provocado pelas diferentes bebidas nas condições erodidas e erodidas/abrasionadas respectivamente

Figura 6 - Gráfico comparativo de perda de dureza de esmalte (%) após erosão provocada por bebidas à base de cola, seguida ou não por abrasão por escovação

Para ambos os desafios, erosão ou erosão seguido de abrasão, a Coca-Cola regular e a Coca Light não provocaram perdas diferentes ($p>0,05$), porém ambas provocaram maior perda comparativamente a Coca Zero ($p<0,05$). Na comparação da perda provocada por cada bebida em ambas as condições, apenas a Coca-Cola regular mostrou-se significativamente diferente ($p<0,05$), levando a maior perda após a abrasão.

Durante as leituras de microdureza, pode-se visualizar que todas as bebidas foram capazes de provocar alterações na superfície de esmalte desafiada, como demonstradas nas Figuras 7 a 10.

Figura 7 - Aspecto da superfície de esmalte polida não desafiada (controle)

Figura 8 - Aspecto da superfície de esmalte polida desafiada por Coca-Cola. Figura A - aspecto da superfície de esmalte após o desafio com Coca-Cola regular por 3x1min/1dia. Figura B - aspecto da interface entre a superfície de esmalte controle não desafiada e a exposta por Coca-Cola

Figura 9 - Aspecto da superfície de esmalte polida desafiada por Coca Light. Figura A - aspecto da superfície de esmalte após o desafio com Coca Light por 3x1min/1dia. Figura B - aspecto da interface entre a superfície de esmalte controle não desafiada e a exposta por Coca Light

Figura 10 - Aspecto da superfície de esmalte polida desafiada por Coca Zero. Figura A - aspecto da superfície de esmalte após o desafio com Coca Zero por 3x1min/1dia. Figura B - aspecto da interface entre a superfície de esmalte controle não desafiada e a exposta por Coca Zero

5.2 FASE EXPERIMENTAL *IN VITRO*

5.2.1 Avaliação da Influência de Diferentes Tipos de Refrigerantes Tipo Cola Como Agente Erosivo na Adesão ao Esmalte

Os valores de média e desvio-padrão de resistência adesiva (MPa) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores de média e de desvio-padrão de resistência adesiva (MPa) de esmalte previamente erodidos/abrasionados restaurados com resina composta

	Controle	ERO-CC	ERO-CL	ERO-CZ
Sem abrasão	23,92 (3,68)Aa	15,38 (3,82)Ba	14,18 (2,87)Ba	15,90 (2,68)Ba
Com abrasão (ABR)	-----	14,71 (1,98)Ba	16,16 (2,37)Ba	12,53 (3,93)Ba

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre colunas ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre os tratamentos entre linhas ($p < 0,05$).

N=6

A Figura 11 ilustra a comparação da resistência adesiva dos diferentes grupos testados.

Figura 11 - Gráfico comparativo entre as médias de resistência adesiva (MPa) das condições testadas, considerando-se o tipo de erosão associado ou não à abrasão por escovação

Apenas o fator agente erosivo (tipo de bebida à base de cola) foi significativo ($p < 0,05$). O fator abrasão por escovação e a interação entre os dois fatores não se apresentaram significantes ($p > 0,05$).

O grupo controle (C) não erodido e não abrasionado apresentou os maiores valores de resistência adesiva comparativamente a qualquer outro tratamento ($p < 0,05$). Para o fator erosão (ERO), todos os grupos apresentaram valores de resistência adesiva significantes, inferiores ao grupo controle ($p < 0,05$), porém sem

diferenças entre si ($p>0,05$). Nos grupos erodidos e abrasionados (ERO/ABR), comportamento similar foi evidenciado, ou seja, inferiores ao grupo controle ($p<0,05$), porém sem diferenças entre si ($p>0,05$).

Adicionalmente, a comparação pareada entre cada grupo erodido e erodido/abrasionado também não revelou diferenças estatisticamente significantes para nenhuma das condições ($p>0,05$).

A distribuição dos tipos de falhas encontrados após a ruptura pelas interfaces analisadas estão apresentadas na Figura 12.

Figura 12 - Gráfico de distribuição em porcentagem do tipo de falha de união de acordo com o tratamento

*A= falha adesiva; M= falha mista; CE= falha coesiva em esmalte; CR= falha coesiva em resina

Podemos observar pela distribuição da Figura 12, que as falhas mistas e adesivas foram prevalentes em todas as condições. Falha coesiva em resina composta foi observada apenas nos grupos erodidos com coca zero (ERO/ABR-CZ) (3,70%). Falha coesiva em esmalte foi observada em todas as condições, exceto para o ERO/ABR-CC, mesmo que em menor ocorrência.

Na análise em microscopia de varredura por confocal a laser (MVCL), foi possível observar o padrão da interface do grupo controle na Figura 13, que apresentou a formação de *tags* de resina na superfície de esmalte hibridizada.

Figura 13 - Interface do sistema adesivo ao esmalte não desafiado (grupo controle). Os *tags* resinosos apresentam-se distribuídos de forma homogênea, revelando um embricamento uniforme

Na análise dos espécimes ERO-CC E ERO/ABR-CC, foi observada a formação de *tags* mais superficiais e heterogêneos, como apresentados respectivamente nas Figuras 14A e 14B. A formação de *tags* apresentou-se superficial, aparentemente inexistente para a superfície erodida. Quando a erosão foi associada à abrasão, a interface apresentou-se mais regular evidenciando também maior embricamento, apesar de superficial, comparativamente ao grupo controle.

Figura 14 - Qualidade da interface estabelecida entre o sistema adesivo e o esmalte previamente erodido com Coca-Cola. Figura A - aspecto da interface adesiva em esmalte previamente erodido com Coca-Cola. *Tags* não são nitidamente observados, revelando-se de forma bastante superficial. Figura B - aspecto da interface adesiva em esmalte previamente erodido com Coca-Cola seguido de abrasão. A camada híbrida é bastante irregular e superficial, porém mais evidente que a condição não abrasionada

Quando desafiado por Coca Light, a camada híbrida também apresentou-se superficial comparativamente ao grupo controle (Figuras 15A e 15B). Quando da associação à abrasão, a camada híbrida mostrou-se mais regular, apresentando formação de *tags* similares aos do grupo controle.

Figura 15 - Qualidade da interface estabelecida entre o sistema adesivo e o esmalte previamente erodido com Coca Light. Figura A - Aspecto da interface adesiva em esmalte previamente erodido com Coca Light. A formação de *tags* é irregular com aspecto superficial. Figura B - Aspecto da interface adesiva em esmalte previamente erodido com Coca Light seguido de abrasão. Embora a camada híbrida formada ainda se apresente mais superficial, há uma maior regularização comparada ao tratamento apenas erodido

Após desafio com Coca Zero, formação similar à condição controle foi observada em ambas as condições, sem ou com associação à escovação (Figuras 16A e 16B).

Figura 16 - Qualidade da interface estabelecida entre o sistema adesivo e o esmalte previamente erodido com Coca Zero. Figura A - Aspecto da interface adesiva em esmalte previamente erodido com Coca Zero. A camada híbrida apresenta-se homogênea e consistente. Figura B - Aspecto da interface adesiva em esmalte previamente erodido com Coca Zero, seguido de abrasão. A camada híbrida mais uma vez apresenta-se com padrão homogêneo e bem distribuído, similar à camada apresentada no grupo controle

Com base nos resultados gerais apresentados, é possível rejeitar ambas as hipóteses nulas, de que não há diferença de adesão ao esmalte não desafiado e desafiado por erosão/abrasão e de que não há diferença de acordo com o tipo de bebida à base de cola utilizado.

5.2.2 Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasado por Coca-Cola Regular em Modelo *In Vitro*

Os resultados da resistência adesiva para cada um dos sistemas adesivos nas diferentes condições estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de resistência adesiva (MPa) utilizando cada sistema adesivo nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos *in vitro*

Grupos	CONTROLE	ERO 1	ERO 5	ERO 1 + ABR	ERO 5 + ABR
SBMP	19,09 (5,41)	18,45 (2,47)	17,41 (5,78)	18,53 (5,04)	14,10 (8,46)
SB	23,92 (3,68)	15,38 (3,82)	17,98 (5,63)	14,71 (1,98)	18,57 (0,97)
CF	20,08 (4,83)	21,42 (9,99)	18,70 (4,30)	16,02 (5,60)	16,86 (9,20)

N=6

A Figura 17 apresenta a comparação entre os grupos testados.

Figura 17 - Gráfico comparativo dos valores de resistência adesiva (MPa) de acordo com os diferentes sistemas adesivos nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos no modelo experimental *in vitro*

Não houve diferença estatisticamente significativa considerando-se os fatores sistema adesivo e condição de desafio erosivo/abrasivo ($p > 0,05$). Dessa forma, as hipóteses nulas foram aceitas.

As análises em microscopia óptica, quanto ao modo de fratura, estão apresentadas na Figura 18 a seguir.

Distribuição(%) dos tipos de falha de união

Figura 18 - Gráfico de distribuição em porcentagem do tipo de falha de união de acordo com o sistema adesivo empregado e desafio erosivo/abrasivo *in vitro*

*A= falha adesiva; M= falha mista; CE= falha coesiva em esmalte; CR= falha coesiva em resina

** SBMP= ScotchBond Multipurpose; SB= Adper Single Bond 2; CF= Clearfil SE Bond

Na análise do uso do sistema SBMP, a falha do tipo mista foi predominante. Com o aumento do tempo de erosão (ERO5), a falha coesiva em esmalte tornou-se mais expressiva, bem como na condição ERO1+ ABR.

Para o sistema SB, nota-se a ocorrência de falha coesiva em resina composta nas condições associadas à escovação, o que não ocorreu em nenhuma outra situação. De forma geral, as falhas do tipo misto e adesivo são predominantes.

Pelas análises das interfaces, quando do uso do sistema CF, observaram-se uma maior estabilidade e similaridade de distribuição dos tipos de falha da interface, havendo maior predomínio da falha do tipo misto. Falhas do tipo coesiva em resina composta não foram observadas, com exceção de seu grupo controle.

5.3 FASE EXPERIMENTAL *IN SITU/ EX VIVO*

5.3.1 Avaliação do Desempenho de Diferentes Sistemas Adesivos Utilizados na Restauração de Esmalte Previamente Erodido/Abrasionado por Coca-Cola Regular em Modelo *In Situ/ Ex Vivo*

Os dados de média e desvio-padrão referentes aos diferentes sistemas adesivos nas diferentes condições testadas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de resistência adesiva (MPa) utilizando cada sistema adesivo nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos *in situ/ex vivo*

	CONTROLE	ERO	ABR	ERO+ABR
SBMP	18,53 (3,30)Aa,b	19,61 (3,17)Aa	16,64 (3,22)Aa,b	18,69 (2,92)Aa
SB	14,88 (4,03)AA	17,00 (3,00)Aa	17,42 (3,11)Ab	13,12 (4,53)Ab
CF	20,36 (2,63)Ab	21,64 (4,83)Aa	17,76 (5,15)Aa	20,66 (2,81)Aa

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre colunas ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre os tratamentos entre linhas ($p < 0,05$).

N=6

A análise revelou a significância apenas para o fator sistema adesivo ($p < 0,05$), não ocorrendo para o fator condição testada nem para a interação entre ambos ($p > 0,05$).

Ao compararmos os sistemas adesivos, SBMP diferenciou-se apenas do sistema SB na condição ERO+ABR, ou seja, SBMP revelou valores de resistência adesiva mais altos ($p < 0,01$). Houve similaridade de resistência adesiva entre os sistemas SBMP e CF em todas as situações avaliadas ($p > 0,05$).

Entre SB e CF houve diferenças significantes em todas as condições testadas, com exceção da condição ERO ($p > 0,05$). Em todos os casos, o sistema CF apresentou valores mais favoráveis.

De modo geral, SB foi o sistema que apresentou os menores valores de resistência adesiva.

Uma comparação gráfica é apresentada na Figura 19.

Figura 19 - Gráfico comparativo dos valores de resistência adesiva (MPa) de acordo com os diferentes sistemas adesivos nas diferentes condições de desafios erosivos/abrasivos no modelo experimental *in situ/ ex vivo*

As análises por microscopia óptica, quanto ao modo de fratura, estão apresentadas na Figura 20 a seguir.

Figura 20 - Gráfico de distribuição em porcentagem do tipo de falha de união de acordo com o sistema adesivo empregado e desafio erosivo/abrasivo *in situ/ ex vivo*

*A= falha adesiva; M= falha mista; CE= falha coesiva em esmalte; CR= falha coesiva em resina

** SBMP= ScotchBond Multipurpose; SB= Adper Single Bond 2; CF= Clearfil SE Bond

Para todos os sistemas adesivos e todas as condições testadas, houve predomínio das falhas do tipo misto. Entretanto, a taxa de ocorrências de falhas adesivas e coesivas em esmalte foi bastante similar.

Apesar de bem menos expressiva, houve a observação de falha coesiva em resina composta para o sistema SB em todas as condições e apenas nas condições ERO para os sistemas SBMP e CF.

Discussão

6 DISCUSSÃO

Procedimentos clínicos na Odontologia tais quais a restauração pós clareamento e/ou microabrasão, fechamentos de diastemas ou reanatomização e colagem de braquetes ortodônticos, envolvem sobretudo, o esmalte dentário (PERDIGÃO; GERALDELI, 2003; NAVARRO et al., 2009; REIS et al., 2009; CALNETO et al., 2011; LAGO et al., 2011; PASHLEY et al., 2011).

Modificações na estrutura desse tecido, de ordem química ou mecânica, podem interferir na qualidade de adesão quando procedimentos dessa natureza são requeridos, mesmo sendo o esmalte considerado um substrato simples e favorável a este processo. Nesse cenário, a erosão dentária se apresenta como um problema real que tem afetado a sociedade, devido em parte, ao aumento do consumo de bebidas ácidas como refrigerantes, isotônicos, suco de frutas e chás de frutas ou pelo consumo de frutas ácidas, os quais de alguma forma provocam a desmineralização dentária (JENSDOTTIR et al., 2004).

A erosão dentária caracteriza-se como uma perda progressiva de tecido dentário por processo químico, que não envolve atividade bacteriana (RIOS et al., 2006a; OWENS; KITCHENS, 2007; ARANHA; EDUARDO; CORDÁS, 2008; DYNESEN et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2009b). Os efeitos dessa destruição dentária podem causar alterações estéticas e funcionais ou até mesmo dor quando da exposição dentinária (REIS et al., 2009).

Segundo Rios et al. (2006a), a associação de um fator mecânico como a escovação, definido como abrasão, associado ao processo químico descrito pela erosão pode potencializar a perda progressiva de tecido dentário. Com isso, com a perda de estrutura, uma nova superfície ainda não comprometida seria exposta ao desafio erosivo/abrasivo, caracterizando um ciclo de desgaste, até que o agente erosivo seja eliminado ou controlado.

O consumo freqüente e rotineiro principalmente de bebidas ácidas do tipo cola pela população tem despertado a curiosidade dos pesquisadores sobre os efeitos erosivos das mesmas. Esse fato vem incentivado diversos estudos que encontramos na literatura atual realizados em delineamentos *in situ* (RIOS et al., 2006; DYNESEN et al., 2008) e *in vitro* (OWENS; KITCHENS, 2007). Diferentes

metodologias de avaliação são utilizadas, como a análise da superfície erodida através da MEV (RIOS et al., 2006b; OWENS; KITCHENS, 2007; TORRES et al., 2010) ou avaliações quantitativas por alteração da microdureza superficial ou profilometria (GANSS et al., 2007; GANSS et al., 2009; RIOS et al., 2009; STENHAGEN et al., 2010).

Mais recentemente, o método BEWE, *Basic Erosive Wear Examination*, ou seja, exame básico de desgaste erosivo, também foi introduzido para se considerar os aspectos clínicos de desgaste a fim de direcionar a uma satisfatória abordagem preventiva e/ou restauradora (BARTLETT et al., 2008; YOUNG et al., 2008; WANG; LUSSI, 2010). Em muitos desses casos, a indicação é de que se realize restaurações ainda em superfície de esmalte.

Entretanto, ainda há poucos estudos reportando aspectos relacionados à adesão ao substrato previamente erodido. Com a fundamentação recente de que diferentes tipos de bebidas, sobretudo os à base de cola e sucos cítricos, podem causar alterações diferenciadas (LUSSI; JAEGGI, 2008; RIOS et al., 2009; WANG; LUSSI, 2010), a implicação na adesão pode também ser distinta.

Apesar de o esmalte ser um substrato dentário que permite a formação de *tags* regulares e uma adesão estável, modificações nesse substrato poderiam afetar negativamente a resistência à adesão, modo de fratura e formação da camada híbrida (ABDALLA et al., 2010; BARCELLOS et al., 2010).

Uma vez que a restauração adesiva é uma das formas de tratamento principais nos casos de restauração em estágio inicial, os profissionais devem estar atentos, durante o procedimento restaurador, em relação a essa condição inicial na tentativa de otimizar a adesão e sua durabilidade.

A análise de resistência à adesão de 24 horas se apresenta de forma válida, pois, nesse período, as ligações desenvolvidas durante a polimerização são consideradas completas (RUYTER; SVENSEN, 1977; BURROW et al., 1994). Além disso, esse estágio também traz informações a respeito da capacidade de resistência aos efeitos deletérios da formação de fendas (DAVIDSON et al., 1984; BURROW et al., 1994).

Previamente à análise da adesão ao esmalte previamente erodido, realizou-se um teste de validação para averiguar se o substrato foi desafiado pelos diferentes refrigerantes, conseguindo provocar lesões artificiais de erosão.

O pH e a titulação para pH 7 (utilizando NaOH a 0,1N) da Coca-Cola regular, Coca Light e Coca Zero foram respectivamente: 2,74/120ml/l; 3,0/120ml/l e 3,08/91ml/l). Com base nessas informações, na composição de cada bebida e nas propriedades testadas de desgaste e perda de microdureza do esmalte, podemos afirmar que houve diferença na capacidade erosiva destas bebidas. A Coca-Cola regular provocou o maior desgaste comparativamente às versões *light* e zero. Quando associada à escovação subsequente, apenas a Coca Zero apresentou-se menos desgastada, em comparação às demais bebidas testadas. A erosão dentária se inicia com a desmineralização do esmalte. Em estágios iniciais, sua dissolução é acompanhada por um enfraquecimento da superfície. O pH da Coca-Cola foi o mais baixo, comparado às outras bebidas e produzindo efeito erosivo distinto quanto ao desgaste. Com a continuidade do desafio erosivo, o esmalte fragilizado pode ser perdido, uma vez que a camada amolecida é mais suscetível às forças mecânicas como a abrasão (RIOS et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009b; SERRA et al., 2009; VORONETS; LUSSI, 2010). No presente trabalho, em nenhuma das comparações de cada tipo de bebida entre a condição erodida e à respectiva associada à abrasão, detectou-se um desgaste diferenciado. Esse resultado pode ser atribuído ao fato de que a erosão provocada tenha sido menos intensa do que apresentado pelos trabalhos prévios, não havendo uma desestruturação mais agressiva da superfície de esmalte. Já na análise entre as diferentes bebidas, apenas na condição associação à abrasão, verificamos que a Coca Zero foi a que provocou menor desgaste. Este comportamento também pode ser, a princípio, fundamentado pelas propriedades de pH e capacidade tampão que se mostraram mais favoráveis, com probabilidade de provocar menor erosão.

Ao associarmos os dados de desgaste com a análise de perda de microdureza superficial, novamente a erosão provocada no esmalte por Coca Zero se destacou das demais bebidas, apresentando menor alteração.

Similarmente, na condição de erosão com a escovação associada, o mesmo padrão de comportamento foi observado. Na análise comparativa entre as condições

apenas erodida ou associada à escovação, apenas a Coca-Cola regular provocou perda mais acentuada, quando associada à escovação.

Todos esses testes iniciais, assim, reforçam a informação na literatura, de que a Coca-Cola regular é a que potencialmente provoca maior alteração no substrato erodido. Rios et al. (2009) e Rios et al (2011) atestam este potencial erosivo, quando comparado à versão da Coca Light. Assim como Birkhed et al. (1984), atestaram que uma pequena diferença de pH pode implicar em diferente grau de desmineralização. Além disso, Rios et al. (2009) levantam a hipótese de que o poder erosivo da versão light também seja reduzido pela presença do aminoácido fenilalanina, proveniente da hidrólise do aspartame, componente relatado na composição pelo fabricante. Por esse raciocínio, a Coca Zero também poderia atribuir um reduzido poder erosivo comparativamente à Coca-Cola, por apresentar este componente. Não se tem o conhecimento exato do mecanismo de ação da fenilalanina, mas esta poderia participar na neutralização do ácido e oferecer uma capacidade tampão mais efetiva ou poderia servir como uma barreira mecânica tal qual a película salivar, entretanto, como em nosso trabalho utilizamos o modelo *in vitro*, não podemos fazer essa afirmação.

Na subsequente análise da resistência à adesão ao esmalte previamente erodido, independente do tipo de refrigerante, esta também foi negativamente afetada comparativamente ao esmalte não exposto à condição de erosão. Entre as bebidas, no entanto, não foram verificadas diferenças significantes.

Em geral, um sistema adesivo convencional é utilizado em associação ao uso de ácido fosfórico a 37% por 30s. De acordo com os resultados, o uso desse ácido, durante a etapa de condicionamento, parece não ter sido capaz de remover totalmente a superfície erodida, uma vez que todos os grupos erodidos reduziram a resistência adesiva comparativamente ao respectivo grupo controle. Assim, podemos especular que os desafios erosivos provocaram uma desmineralização mais profunda.

Na literatura, como demonstrado por Barcellos et al. (2010), de forma similar, a alteração provocada por tratamentos de clareamento que também resulta em erosão do substrato, foi capaz de causar interferências estruturais no esmalte, interferindo negativamente no tratamento restaurador adesivo. Nesse trabalho, a resistência adesiva se reduzia com o aumento da concentração do produto

clareador, tendo sido utilizado o mesmo substrato, sistema adesivo e resina composta aplicados em nosso estudo.

De acordo com o tipo de falha das interfaces, as falhas adesivas e mistas foram prevalentes para todas as condições testadas. No grupo controle, encontramos quase 20% de falhas coesivas em esmalte. Na literatura, este padrão pode ser, geralmente, interpretado como a obtenção de uma adesão favorável, sendo mais resistente e capaz de superar a resistência coesiva do esmalte. Este padrão é esperado em proporções maiores, como ocorreu, quando a adesão ocorre junto ao substrato de esmalte. Quando analisamos a condição apenas erodida, os grupos mantiveram distribuição de padrões de fratura similares para, porém a Coca Zero revelou 3,70% de falhas coesivas em resina composta, reforçando mais uma vez sua condição favorável. Estes resultados sugerem menor fragilidade do esmalte resultante e pode estar relacionado ao menor potencial erosivo da Coca Zero. Quando houve associação à escovação, o esmalte erodido por Coca-Cola regular não revelou falha coesiva em esmalte, especulando-se que a superfície erodida foi potencialmente removida pela abrasão. Para a Coca Light e Coca Zero, podemos especular que a escovação teve um menor impacto, provavelmente devido ao menor potencial erosivo destas bebidas, resultando em uma estrutura superficial menos afetada e portanto, também não facilmente removida (RIOS et al., 2006a; RIOS et al., 2009). Esses resultados permitem uma melhor compreensão do que ocorre qualitativamente, uma vez que esses aspectos detalhados não foram necessariamente revelados pelo teste quantitativo. Isso porque diferenças não foram relacionadas à resistência adesiva, entre cada uma das bebidas, a não ser pelo fato de que todas foram capazes de afetar negativamente a união.

Quando as imagens de MVCL foram analisadas, exceto pela Coca Zero, todos os espécimes erodidos apresentaram formação de camada híbrida alterada, comparativamente ao grupo não erodido. Tanto a Coca-Cola regular como a Coca Light reduziram a formação de *tags*. Entretanto, o esmalte erodido com Coca-Cola regular apresentou-se mais irregular.

Apesar de alguns estudos demonstrarem o efeito da escovação sobre o substrato erodido amolecido, esmalte e/ou dentina (RIOS et al., 2006a; GANSS et al., 2007; GANSS et al., 2009), o efeito da abrasão não foi considerado significativo pelo teste de resistência adesiva no presente estudo.

Entretanto, pela MVCL, os espécimes erodidos/abrasionados apresentaram, de forma geral, um aspecto mais regular que seus correspondentes apenas erodidos, com exceção da Coca Zero que apresentou parâmetro similar de formação de camada híbrida em todas as condições estudadas. Tais resultados indicam que a abrasão removeu a camada superficial mais fragilizada, principalmente no caso da Coca-Cola regular, permitindo uma camada híbrida mais bem formada, mesmo com a resistência negativamente afetada como no grupo apenas erodido.

Diante desses resultados, a Coca-Cola regular foi utilizada para os demais testes, uma vez que esta se revelou como o agente erosivo mais potente.

Na análise *in vitro* comparativa dos diferentes sistemas adesivos aplicados nas distintas situações em que apenas a Coca-Cola foi utilizada como agente erosivo, não houve nenhuma diferença significativa entre os sistemas adesivos utilizados nas condições testadas. A princípio, esse resultado sugere que qualquer um dos sistemas adesivos poderia ser aplicado a esse substrato, podendo ser usado com similaridade de desempenho.

Os sistemas convencionais, Scotchbond multipurpose e Adper Single Bond 2 requerem necessariamente a indicação de um condicionamento ácido prévio, utilizando-se o ácido fosfórico. Esse condicionador provoca a ação de desmineralização do esmalte, sendo capaz de promover o embricamento mecânico necessário ao sistema adesivo propriamente dito (RETIEF et al., 1986; PEREIRA et al., 2010; PASHLEY et al., 2011). Pela análise de resistência de união, em todas as condições avaliadas, esses sistemas apresentaram valores similares e aceitáveis de acordo com o que avaliamos na literatura (PERDIGÃO; GERALDELLI, 2003). Porém, ao resgatarmos os resultados apresentados na primeira etapa do presente estudo, destacamos que houve características do padrão qualitativo que nos permitem sugerir um cuidado ao analisarmos o padrão de camada híbrida, que se tornou bastante irregular com o desafio erosivo em Coca-Cola regular. Essas irregularidades, na análise de 24 horas, entretanto, parece não ter comprometido a adesão quando ambos os fatores foram considerados simultaneamente (tipo de adesivo x condição testada).

Em trabalhos como o de Lago et al. (2009), em que se testou a resistência adesiva ao esmalte com a associação de ácido fosfórico com o Er:YAG, os autores destacaram que o ácido fosfórico normalmente é capaz de otimizar a retenção por

produzir microporosidades (6 a 12 μm) e aumentar a área de contato e a energia de superfície, mas que em algumas condições, como no esmalte erodido por agentes clareadores, apenas o uso do ácido fosfórico resultou em um padrão de condicionamento de esmalte insuficiente para a adesão ao esmalte. Esse resultado demonstra que a superfície alterada estruturalmente pode apresentar-se variável para receber o condicionamento ácido e resultar em padrões distintos. Nesse estudo, o condicionamento ácido associado ao laser foi útil na obtenção de uma superfície com um padrão de irregularidade que promoveu aumento da retenção. Entretanto, o uso exclusivo do laser, sem o condicionamento ácido, não demonstrou o mesmo resultado favorável. Esse mesmo raciocínio é apresentado por Grando et al. (2004) ao analisar uma mesma camada de esmalte que sofreu erosão por refrigerantes. Essa condição provavelmente permite resultados variáveis da receptividade da superfície de esmalte ao interagir com diferentes sistemas adesivos. Sendo assim, destacamos mais uma vez a relevância de no presente estudo, utilizarmos uma ciclagem com Coca-Cola regular menos agressiva para que uma mesma camada de esmalte pudesse ser erodida, na tentativa de proporcionar um padrão menos variável possível. Nessa direção, Torres et al. (2010) também evidenciaram que a erosão da superfície/subsuperfície de esmalte expõe uma nova camada à medida que se submete ao agente erosivo como a Coca-Cola, fato esse constatado pela mensuração de microdureza da nova superfície exposta, similar a dureza inicial.

Em relação ao sistema autocondicionante Clearfil SE Bond, os resultados do presente estudo revelaram valores de resistência adesiva similares aos obtidos para os sistemas convencionais testados. Cabe ressaltar ainda que, esse sistema adesivo foi utilizado com a aplicação prévia de ácido fosfórico, uma vez que seus monômeros ácidos, por si só, seriam insuficientes para condicionar o esmalte e criar as vias de infiltração necessárias ao material resinoso (PERDIGÃO; GERALDELLI, 2003; PASHLEY et al., 2011). Essa característica foi especialmente desenvolvida direcionando à estratégia de adesão ao substrato dentinário, limitando a desmineralização e reduzindo a possibilidade de sensibilidade pós-operatória (PERDIGÃO; GERALDELLI, 2003; VAN LANDUYT et al., 2006; PEREIRA et al., 2010; PASHLEY et al., 2011). Diferentemente do ácido fosfórico, que promove uma desmineralização no esmalte dependente da concentração e tempo de aplicação

(RETIEF et al., 1986), os monômeros ácidos dos sistemas autocondicionantes apresentam pH que variam entre 1,5 e 2,8, tornando-os, em alguns casos, ácidos fracos (WATANABE et al., 2008). No entanto, o principal diferencial entre esses sistemas com os sistemas convencionais é pelo fato de que os autocondicionantes agem modificando o *smear layer* e não são lavados da superfície como os convencionais, permitindo a formação de uma camada, que no caso do esmalte, se torna menos eficiente para a adesão ao esmalte (VAN LANDUYT et al., 2006). Dessa forma, a opção da associação com ácido fosfórico prévio aos sistemas autocondicionantes de dois passos na adesão ao esmalte passou a ser estabelecida até mesmo por muitos fabricantes para otimizar a ação de desmineralização do esmalte, uma vez que esse substrato é mais rico em minerais comparativamente à dentina. Pelos resultados quantitativos de resistência adesiva apresentados, essa associação permitiu condição satisfatória de adesão, alcançando valores de resistência similares aos sistemas convencionais testados neste estudo.

Trabalhos prévios demonstram que o uso de sistemas autocondicionantes em esmalte pode ser efetivo desde que haja alguma estratégia associada, como o uso de ácido fosfórico prévio e/ou um tratamento mecânico para criar mecanicamente uma irregularidade favorável ao sistema (PERDIGÃO; GERALDELLI et al., 2003, VAN LANDUYT et al., 2006; WATANABE et al., 2008). Entretanto, Yoshioka et al. (2002) afirmam que o monômero MDP (10-Metacriloiloxidecil dihidrogênio fosfato) que compõe o Clearfil SE Bond apresenta uma adesão química efetiva à hidroxiapatita em tempo clinicamente aceitável. O sal resultante dessa reação tem característica insolúvel, o que contribuiria efetivamente à estabilidade da união, visto que a presença da água é fundamental no processo de ionização do monômero ácido e participa da desmineralização do tecido dentário, sendo menos suscetível à variação de umidade, que é característica dos sistemas convencionais. Apesar de favorecer o aumento da resistência adesiva, não é este o indicativo exclusivo de que a adesão se torna mais eficaz, necessitando conciliá-lo com os aspectos qualitativos. Sob esse prisma, Perdigão e Geraldelli (2003) evidenciaram, através de microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo, que os adesivos convencionais promovem um padrão de condicionamento interprismático profundo, enquanto que os sistemas autocondicionantes resultam em padrões que variam de ausentes a moderado. Nesse caso, a aplicação do sistema Clearfil SE

Bond resultou em um padrão desfavorável ao embricamento mecânico, porém com valores de resistência bastante favoráveis. Esse desempenho pode ser atribuído à provável capacidade de interação química de seu monômero com a hidroxiapatita, como já aventada por Yoshioka et al. (2002). Cehreli e Eminkahyagil (2006) apresentam evidências similares às descritas acima, através de microscopia eletrônica de varredura, ocorrendo também para os dentes decíduos.

No presente estudo, os valores de resistência de adesão ao esmalte de todas as condições erodidas/abrasionadas testadas, mesmo não sendo diferentes, estatisticamente, para nenhum dos sistemas adesivos, mostraram-se abaixo do limite inferior de 20-30 MPa reportado na literatura para adesão ao esmalte (ABDALLA et al., 2010).

Também na análise dos tipos de falhas, há uma distribuição similar nos diferentes grupos testados. As falhas mistas e adesivas somam a maior porcentagem, entretanto apresentando a falha coesiva em esmalte bastante expressiva.

No estudo *in situ*, também se utilizou a Coca-Cola regular como único agente erosivo. Os resultados indicam que houve diferenças apenas para o fator sistema adesivo. O sistema Adper Single Bond 2 foi o que apresentou a menor resistência de união ao esmalte e o único a se diferir dos demais sistemas, Scotchbond Multipurpose e Clearfil SE Bond, que apresentaram não apenas valores similares em todas as condições testadas, mas também na análise do tipo de falhas.

Scotchbond Multipurpose representa a categoria de sistemas adesivos convencionais de três passos, considerado como padrão ouro. O fato de que os valores de resistência adesiva ao esmalte do sistema CF se assemelharem aos do SBMP está de acordo com os dados de Abdalla et al. (2010). Estes autores também afirmam que o aumento da taxa de falhas coesivas em esmalte, como observado nos nossos resultados, é comum com o aumento da resistência adesiva. Nesse caso, estaria coerente com os dados quantitativos do teste de resistência de união, uma vez que ambos os sistemas apresentaram expressiva taxa desse tipo de fratura. Podemos atribuir o comportamento otimizado do Clearfil SE Bond às situações já apresentadas para esse sistema, quando abordados os resultados de seu desempenho *in vitro*. Reforça-se que o pH desse sistema, em torno de 1,9, torna-o um ácido moderado, incapaz de promover a microrretenção adequada para

a infiltração do sistema adesivo. Assim, Hannig et al. (2002) e Abdalla et al. (2010), atribuíram esse desempenho satisfatório à provável nanorretenção. De acordo com Yoshida et al. (2004), a contribuição de ordem química também deveria ser considerada nesses casos.

O sistema Adper Singe Bond 2 de uma maneira geral, apresentou-se com os menores valores em todas as condições testadas. De todos os sistemas avaliados, este sistema é o único simplificado, não apresentando um componente adesivo hidrofóbico separado. Espera-se desse tipo de sistema, uma menor durabilidade quando aplicado, sobretudo, à dentina. No esmalte, entretanto, em curto tempo de análise, esse padrão normalmente não é salientado. Uma provável explicação estaria na própria interação com um substrato alterado, favorecendo assim essa condição insatisfatória de um sistema simplificado. Na análise do tipo de falhas desse sistema, o que mais se destaca, diferencialmente às etapas prévias, diz respeito à verificação de falhas coesivas em resina composta.

Vale lembrar, que na etapa *in situ*, o tempo de desafio erosivo foi superior ao utilizado nas etapas *in vitro*, correspondendo a imersões de 5 minutos em vez de 1 minuto. Essa opção foi intencional, uma vez que os desafios erosivos para esse modelo experimental normalmente utilizam esse tempo e assim permitiriam melhor comparação (RIOS et al., 2009; RIOS et al., 2011). Além disso, com a intensificação da erosão, poderíamos avaliar o papel da saliva, ferramenta essencial no balanceamento das reações químicas intrabucais.

A etapa *in situ* se diferencia principalmente por simular um meio mais próximo do que ocorre na cavidade bucal. Assim, a saliva ou película adquirida confere uma proteção contra a desmineralização, podendo agir sinergicamente na tentativa de minimizar os efeitos dos ácidos que provocam a desmineralização (HARA et al., 2006; HARA et al., 2008).

Os resultados de nosso trabalho estão coerentes com a fundamentação dos dados da literatura. Aos sistemas autocondicionantes, é proposto o uso prévio de condicionamento ácido (TASCHNER et al., 2010). Assim, reforça-se que a adesão ao esmalte está condicionada à criação de vias mecânicas para a infiltração do adesivo. Quando há uma modificação do esmalte, são estas vias que devem continuar ou serem criadas, independente da estratégia (FIRAT et al., 2010).

Apenas pelos testes quantitativos não podemos afirmar que houve necessariamente um prejuízo nos valores de resistência adesiva nos grupos tratados com Coca-Cola, sem ou com associação da escovação, para nenhum dos sistemas adesivos testados. Entretanto, a associação aos dados qualitativos revelaram aspectos que demonstram que as superfícies de esmalte erodidas requerem atenção especial ao serem tratadas com sistemas adesivos.

No presente estudo, detivemo-nos no tratamento da lesão em estágio inicial, sem o acometimento da dentina, apenas envolvendo a superfície de esmalte. Clinicamente, esses resultados são relevantes para a restauração de superfícies de esmalte com menor comprometimento, mas que apresentaram perda estrutural, principalmente da superfície vestibular dos dentes anteriores, por haver comprometimento da estética (REIS et al., 2009).

A restauração adesiva em estágio precoce também pode ser útil na prevenção da progressão da erosão de esmalte. Assim, os resultados do presente estudo destacam o mecanismo de adesão ao esmalte envolvido nos estágios iniciais da erosão.

Podemos concluir que os processos erosivos e abrasivos podem alterar a superfície de esmalte e determinar diferenças no padrão de adesão, o que é mostrado com as diferenças no modo de fratura de cada tipo de desafio para cada sistema utilizado.

Clinicamente, podemos sugerir, mediante os resultados, que se realize para quaisquer que sejam os desafios erosivos/abrasivos, uma asperização prévia da superfície a fim de se expor uma superfície não alterada, possibilitando menor variação. Além disso, uma vez que os ensaios clínicos confirmatórios têm demonstrado uma preocupação crescente com a restauração de dentes erodidos, a grande maioria deles relacionam-se às falhas em substrato dentinário (KIM et al., 2005; SPREAFICO, 2010; WILDER et al., 2009). Dessa forma, há também a necessidade de se investigar esses resultados por meio de ensaios clínicos considerando-se a superfície de esmalte.

Conclusões

---

7 CONCLUSÕES

As superfícies de esmalte erodidas por bebidas à base de cola, seguidas ou não de abrasão por escovação, resultaram em um substrato alterado para o estabelecimento da adesão.

Os sistemas adesivos apresentaram desempenhos distintos no esmalte previamente erodido. O sistema convencional de três passos e o sistema autocondicionante de dois passos, associado ao ácido fosfórico, apresentaram melhor desempenho comparado ao sistema convencional de dois passos.

Referências

Bibliográficas

REFERÊNCIAS

- Abdalla AI, El Zohairy AA, Abdel Mohsen MM, Feilzer AJ. Bond efficacy and interface morphology of self-etching adhesives to ground enamel. *J Adhes Dent*. 2010;12:19-25.
- Abrahamsen C. The worn dentition – pathognomonic patterns of abrasion and erosion. *Int Dent J*. 2005;55:268-78.
- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil* 1999;26(8):624-30.
- Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent*. 2005;33(3):243-52.
- Ameye C, Lambrechts P, Vanherle G. Conventional and microfilled composite resins. Part 1 Color stability and marginal adaptation. *J Prosthet Dent*. 1981;46(6): 623-30.
- Aranha AC, Eduardo C de P, Cordás TA. Eating disorders. Part I: Psychiatric diagnosis and dental implications. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(6):73-81
- Aziz K, Ziebert A, Cobb D. Restoring erosion associated with gastroesophageal reflux using direct resins: case report. *Oper Dent*. 2005;30(3):395-401.
- Badra VV, Faraoni JJ, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Influence of different beverages on the microhardness and surface roughness of resin composites. *Oper Dent*. 2005;30(2):213-19.
- Bagheri R, Burrow MF, Tyas M. Influence of food-simulating solutions and surface finish on susceptibility to staining of aesthetic restorative materials. *J Dent*. 2005;33(5):389-98.
- Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. An investigation of some food-approved polymers as agents to inhibit hydroxyapatite dissolution. *Eur J Oral Sci*. 2005;113(6):457-61.
- Barcellos DC, Benetti P, Fernandes VVB Junior, Valera MC. Effect of carbamide peroxide bleaching gel concentration the bond strength of dental substrates and resin composite. *Oper Dent*. 2010;35(4):463-9.

Bartlett DW. The role of erosion on the tooth wear: aetiology, prevention and management. *Int Dent J*. 2005;55(4):277-84.

Bartlett D, Ganss C, Lussi A. Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Investig*. 2008;12(Suppl 1):S65-8.

Bavbek AB, Dogan OM, Yilmaz T, Dogan A. The role of saliva in dental erosion and a prosthetic approach to treatment: a case report. *J Contemp Dent Pract*. 2009;10(3):74-80.

Birkhed, D. Sugar content, acidity and pH effect on plaque of fruit juices, fruit drinks, carbonated beverages and sport drinks. *Caries Res*. 1984;18(2):120-7.

Bishop, K, Kelleher M, Briggs P, Joshi R. Wear now? An update on the etiology of tooth wear. *Quintessence Int*. 1997;28(5):305-12.

Bittencourt ME, Trentin MS, Linden MS, de Oliveira Lima Arsati YB, França FM, Flório FM et al. Influence of in situ postbleaching times on shear bond strength of resin-based composite restorations. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(3):300-6.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955;34(6):849-53.

Burrow MF, Tagami J, Negishi T, Nikaido T, Hosoda H. Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems. *J Dent Res*. 1994;73(2):522-8.

Cal-Neto JP, Castro S, Moura PM, Ribeiro D, Miguel JA. Influence of enamel sandblasting prior to etching on shear bond strength of indirectly bonded lingual appliances. *Angle Orthod*. 2011;81(1):149-52.

Candenaro M, Breschi L, Nucci C, Antonioli F, Visintini E, Prati C et al. Effect of two in-office whitening agents on the enamel surface in vivo: A morphological and non-contact profilometric study. *Oper Dent*. 2008;33(2):127-34.

Carvalho RM, Fernandes CA, Villanueva R, Wang L, Pashley DH. Tensile strength of human dentin as a function of tubule orientation and dentistry. *J. Adhes Dent*. 2001;3(4):309-14.

Cavalli V, Giannini M, Carvalho RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater*. 2004;20(9):733-9.

Cehreli SB, Eminkahyagil N. Effect of active pretreatment of self-etching primers on the ultramorphology of intact primary and permanent tooth enamel. *J Dent Child*. 2006;73(2):86-90.

Chan KC, Fuller JL, Hormati AA. The ability of foods to stain two composite resins. *J Prosthet Dent*. 1980;43(5):542-5.

Clark DC. Oral complications of anorexia nervosa and/ or bulimia: with a review of the literature. *J Oral Med*. 1985;40(3):134-8.

Correr GM, Alonso RC, Correa MA, Campos EA, Baratto-Filho F, Puppim-Rontani RM. Influence of diet and salivary characteristics on the prevalence of dental erosion among 12-year-old schoolchildren. *J Dent Child*. 2009;76:181-7.

Cui FZ, Ge J. New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007;1(3):185-91.

D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Factors affecting use of fluorescent agents in identification of resin-based polymers. *J Adhes Dent*. 2006a;8(5):285-92.

D'Alpino PH, Wang L, Rueggeberg FA, Svizero NR, Pereira JC, Pashley DH, Carvalho RM. Bond strength of resin-based restorations polymerized with different light-curing sources. *J Adhes Dent*. 2006b; 8(5):293-8.

Davidson CL, de Gee AJ, Feilzer A. The competition between the composite-dentin bond strength and the polymerization contraction stress. *J Dent Res*. 1984;63(12):1396-9.

Dynesen AW, Bardow A, Petersson B, Nielsen LR, Nauntofte B. Salivary changes and dental erosion in bulimia nervosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106(5):696-707.

Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching: an in vitro study. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(5):546-51.

Fabre HS, Fabre S, Cefaly DF, de Oliveira Carrilho MR, Garcia FC, Wang L. Water sorption and solubility of dentin bonding agents light-cured with different light sources. *J Dent*. 2007;35(3):253-8.

Featherstone JDB. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater.* 1996;12(3):194-7.

Featherstone JDB, Zero DT. An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res.* 1992;71(sp. issue):804-10.

Federlin M, Thonemann B, Schmalz G, Urlinger T. Clinical evaluation of different adhesive systems for restoring teeth with erosion lesions. *Clin Oral Investig.* 1998;2(2):58-66.

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

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;117(3):255-60.

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J. Effects of toothbrushing on eroded dentine. *Eur J Oral Sci.* 2007; 115(5):390-6.

Garcia FC, Wang L, Pereira LC, de Andrade e Silva SM, Júnior LM, Carrilho MR. Influences of surface and solvent on retention of HEMA/mixture components after evaporation. *J Dent.* 2010a;38(1):44-9.

Garcia G, Fernandes KB, Garcia FC, D'Alpino PH, da Rocha Svizero N, Wang L. Solvent retention of contemporary commercial dentin bonding agents in a demineralized dentin matrix. *Eur J Dent.* 2010b;4(3):293-7.

Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH. In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. *Caries Res.* 1996;30(5):73-8.

Gregg T, Mace S, West NX, Addy M. A study in vitro of the abrasive effect of the tongue on enamel and dentine softened by acid erosion. *Caries Res.* 2003;38(6):557-60.

Gudmundsson K, Kristleifsson G, Theodors A, Holbrook WP. Tooth erosion, gastroesophageal reflux, and salivary buffer capacity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(2):185-9.

Gwinnett AJ, Matsui A. A study of enamel adhesives. The physical relationship between enamel and adhesives. *Arch Oral Biol.* 1967;12(12):1651-9.

Hannig M, Balz M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res.* 1999;33(5):372-9.

Hannig M, Bock H, Bott B, Hoth-Hannig W. Inter-crystallite nanoretention of self-etching adhesives at enamel imaged by transmission electron microscopy. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(6):464-70.

Hannig M, Fiebiger M, Güntzer M, Döbert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol.* 2004;49(11):903-10.

Hara AT, Ando M, González-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res.* 2006;85(7):612-6.

Hara AT, González-Cabezas C, Creeth J, Zero DT. The effect of human saliva substitutes in an erosion-abrasion cycling model. *Eur J Oral Sci.* 2008a;116(6):552-6.

Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci.* 2008b;116(1):60-5.

Honório HM, Rios D, Francisconi LF, Magalhães AC, Machado MA, Buzalaf MA. Effect of prolonged erosive pH cycling on different restorative materials. *J Oral Rehabil.* 2008;35(12):947-53.

Honório HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Delbem AC, Buzalaf MA, Machado MA. Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges. *Caries Res.* 2010;44(1):29-32.

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

Jensdottir T, Arnadottir IB, Thorsdottir I, Bardow A, Gudmundsson K, Theodors et al. Relationship between dental erosion, soft drink consumption, and gastroesophageal reflux among Icelanders. *Clin Oral Investig.* 2004;8(2):91-6.

Johansson A-K, Lingström P, Imfeld T, Birkhead D. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 2004;112(6):484-9.

Johansson AK, Johansson A, Stan V, Ohlson CG. Silicone sealers, acetic acid vapours and dental erosion: a work-related risk? *Swed Dent J*. 2005;29(2):61-9.

Kanca J. Improved bond strength through acid-etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces. *J Am Dent Assoc*. 1992;123(9):35-43.

Kim SO, Kwak JY, Choi BJ, Lee JH. Oral manifestations of a child with chronic vomiting. *J Dent Child*. 2005;72(2):49-51.

Koulourides T, Chien MC. The in situ experimental model in dental research. *J Dent Res*. 1992;71(sp. issue):822-7.

Lago ADN, Freitas PM, Garone Netto N. Evaluation of the bond strength between a composite resin and enamel submitted to bleaching treatment and etched with Er: YAG laser. *Photomed and Laser Surg*. 2011;29(2):1-5.

Lambrechts P, Van Meerbeek B, Perdigão J, Gladys S, Braem M, Vanherle G. Restorative therapy for erosive lesions. *Eur J Oral Sci*. 1996;104(2):229-40.

Larsen MJ. Effect on the chemical and physycal nature of erosions and caries lesions in dental enamel. *Caries Res*. 1991;25(5):323-9.

Liew VP, Frisken KW, Touyz SW, Beumont PJ, Williams H. Clinical and microbiological investigation of anorexia nervosa. *Aust Dent J*. 1991;36(6):435-41.

Lührs AK, Guhr S, Schilke R, Borchers L, Geurtsen W, Günay H. Shear bond strength of self-etch adhesives to enamel with additional phosphoric acid etching. *Oper Dent*. 2008;33(2):155-62.

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

Lussi A, Jaeggi T. Erosion--diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig*. 2008;12(Suppl 1):S5-13.

Lussi A. Dental erosion. Clinical diagnosis and case history taking. *Eur J Oral Sci*. 1996;104(2):191-8.

Magalhães AC, Moraes SM, Rios D, Buzalaf MA. Effect of ion supplementation of a commercial soft drink on tooth enamel erosion. *Food AdditContam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2009a;26(2):152-6.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MA. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009b;17:75-86.

Magalhães AC, Stancari FH, Rios D, Buzalaf MAR. Effect of an experimental 4% titanium tetrafluoride varnish on dental erosion by a soft drink. *J Dent.* 2007; 35(11):858-61.

Manning RH, Edgar WM. Intra-oral models for studying de- and remineralization in man: methodology and measurement. *J Dent Res.* 1992;71(sp. issue):895-900.

Meruman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res.* 1991;25(2):81-7.

Meurman JH. Wine, alcohol, and oral health, with special emphasis on dental erosion. *Quintessence Int.* 2000;31(10):729-33.

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

Meurman JH, Drysdale T, Frank RM. Experimental erosion of dentin. *Scand J Dent Res.* 1991;99(6):457-62.

Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Kuboki T, et al. Enamel-smear compromises bond by mild self-etch adhesives. *J Dent Res.* 2010;89(12):1505-9.

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent.* 1991;3(4):133-8.

Navarro R, Vicente A, Ortiz AJ, Bravo LA. The effects of two soft drinks on bond strength, bracket microleakage, and adhesive remnant on intact and sealed enamel. *Eur J Orthod.* 2011;33(1):60-5.

Nihi FM, Fabre HS, Garcia G, Fernandes KB, Ferreira FB, Wang L. In vitro assessment of solvent evaporation from commercial adhesive systems compared to experimental systems. *Braz Dent J.* 2009;20(5):396-402.

Owens BM, Kitchens M. The erosive potential of soft drinks on enamel surface substrate: an in vitro scanning electron microscopy investigation. *J Contemp Dent Pract.* 2007;8(7):11-20.

Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011; 27(1):1-16.

Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater*. 2001;17(5):430-44.

Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010;26(2):24-37.

Perdigão J, Geraldeli S. Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel. *J Esthet Restor Dent*. 2003;15(1):32-41.

Pereira PN. Dentin/Enamel bonding. *J Esthet Restor Dent*. 2010;22(5):280-1.

Peumans M, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent*. 2007;9(1):7-10.

Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*. 2005;21(9):864-81.

Piangprach T, Hengtrakool C, Kukiattrakoon B, Kedjarune-Leggat U. The effect of salivary factors on dental erosion in various age groups and tooth surfaces. *J Am Dent Assoc*. 2009;140(9):1137-43.

Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res*. 2004;18(4):306-11.

Reis A, Higashi C, Loguercio AD. Re-anatomization of anterior eroded teeth by stratification with direct composite resin. *J Esthet Restor Dent*. 2009;21(5):304-16.

Retief DH, Busscher HJ, de Boer P, Jongebloed WL, Arends J. A laboratory evaluation of three etching solutions. *Dent Mater*. 1986;2(5):202-6.

Rios D, Honório HM, Francisconi LF, Magalhães AC, de Andrade Moreira Machado MA, Buzalaf MA. In situ effect of an erosive challenge on different restorative materials and on enamel adjacent to these materials. *J Dent*. 2008;36(2):152-7.

Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Buzalaf MAR, Palma-Dibb RG, Machado MAAM et al. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an in situ study. *Braz Oral Res* 2006a; 20(2):148-54.

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

Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Wiegand A, de Andrade MMA, Buzalaf MA. Light cola drink is less erosive than the regular one: an in situ/ex vivo study. *J Dent*. 2009a;37(2):163-6.

Rios D, Magalhães AC, Machado MA, da Silva SM, Lizarelli R de F, Bagnato VS et al. In vitro evaluation of enamel erosion after Nd:YAG laser irradiation and fluoride application. *Photomed Laser Surg* 2009b;27(5):743-7.

Rios D, Santos FCZ, Honório HM, Magalhães AC, Wang L, Machado MAAM, et al. An in situ/ex vivo comparison into the ability of regular and light cola to induce enamel wear when erosion is combined to abrasion. *Quintessence Int*. In press 2011.

Ruyter IE, Svendsen SA. Remaining methacrylate groups in composite restorative materials. *Acta Odontol Scand*. 1978;36(2):75-82.

Salz U, Bock T. Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue - a review. *J Adhes Dent*. 2010;12(5):343-71.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength – Evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994;10(4):236-40.

Santos JL, Cassaro SE, Santos JR, Scalco VF, Barbosa KC, Lauris JR et al. Influência de diferentes soluções químicas na microdureza de resinas compostas. *Rev Unopar Cient Biol Saude*. 2005;7(1):49-54.

Sarrett DC, Coletti DP, Peluso AR. The effects of alcoholic beverages on composite wear. *Dent Mater*. 2000;16(1):62-7.

Sasaki RT, Flório FM, Basting RT. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Oper Dent*. 2009; 34(6):746-52.

Scalco V, Mello LLCP, Gonini-Junior A, Cefaly DFG, Wang L. Tratamento de dentes anteriores desgastados pela associação de hábitos parafuncionais e erosão dentaria. *R Dental Press Estet.* 2005;2(2):89-100.

Serra MC, Messias DC, Turssi CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. *Braz Oral Res* 2009;23(Suppl 1):49-55.

Silverstone LM. The histopathology of enamel lesions produced in vitro in teeth previously exposed to calcifying fluids. *Caries Res.* 1970;4(1):31-48

Spreafico RC. Composite resin rehabilitation of eroded dentition in a bulimic patient: a case report. *Eur J Esthet Dent.* 2010;5(1):28-48.

Stege P, Visco-Dangler L, Rye L. Anorexia nervosa: review including oral and dental manifestations. *J Am Dent Assoc.* 1982;104(5):648-52.

Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Taxt-Lamolle S, Tveit AB. Comparing different methods to assess erosive lesion depths and progression in vitro. *Caries Res.* 2010;44(6):555-61.

Stookey GK. Reactor paper concerning patient selection and appliance design in intra-oral models. *J Dent Res.* 1992;71(sp. issue):911-2.

Suh BI, Feng L, Pashley DH, Tay FR. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and chemically-cured or dual-cured composites. Part III. Effect of acidic resin monomers. *J Adhes Dent.* 2003;5(4):267-82.

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curszon MEJ. Soft drinks and dental health: a review of the current literature. *J Dent.* 2006;34(1):2-11.

Taschner M, Nato F, Mazzoni A, Frankenberger R, Krämer N, Di Lenarda R, Petschelt A, Breschi L. Role of preliminary etching for one-step self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(5):517-24.

Tay FR, Suh BI, Pashley DH, Prati C, Chuang SF, Li F. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and self-cured or dual-cured composites. Part II. Single-bottle, total-etch adhesive. *J Adhes Dent.* 2003;5(2):91-105.

Ten Cate JM, Van de Plassche-Simons YM, Van Strijp AJP. Importance of model parameters in the assessment of intra-oral remineralization. *J Dent Res.* 1992;71(sp. issue), 879-83.

Torres CP, Chinelatti MA, Gomes-Silva JM, Rizóli FA, Oliveira MA, Palma-Dibb RG et al. Surface and subsurface erosion of primary enamel by acid beverages over time. *Braz Dent J.* 2010;21(4):337-45.

Tsujimoto A, Iwasa M, Shimamura Y, Murayama R, Takamizawa T, Miyazaki M. Enamel bonding of single-step self-etch adhesives: influence of surface energy characteristics. *J Dent.* 2010;38(2):123-30.

Tylenda CA, Roberts MW, Elin RJ, Li SH, Altemus M. Bulimia nervosa. Its effect on salivary chemistry. *J Am Dent Assoc.* 1991;122(6):37-41.

Van Landuyt KL, Kanumilli P, De Munck J, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching. *J Dent.* 2006;34(1):77-85.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215-35.

Van Meerbeek B, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Peumans M. A randomized controlled study evaluating the effectiveness of a two-step self-etch adhesive with and without selective phosphoric-acid etching of enamel. *Dent Mater.* 2005;21(4):375-83.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010;26(2):100-21.

Voronets J, Lussi A. Thickness of softened human enamel removed by toothbrush abrasion: an in vitro study. *Clin Oral Investig.* 2010;14(3):251-6.

Wang L, Honorio HM, Rios D, Delbem AC, Palma-Dibb RG, Buzalaf MA et al. Short-term in situ/ex vivo study of the anticariogenic potential of a resin-modified glass-ionomer cement associated with adhesive systems. *Quintessence Int.* 2010;41(10):192-9.

Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *DentClin North Am.* 2010;54(3):565-78.

Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent.* 2011;39(2):163-70.

Watanabe T, Tsubota K, Takamizawa T, Kurokawa H, Rikuta A, Ando S et al. Effect of prior acid etching on bonding durability of single-step adhesives. *Oper Dent*. 2008;33(4):426-33.

Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med*. 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*. 2008a;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*. 2010a;55(3):223-8.

Wiegand A, Köwing L, Attin T. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. *Arch Oral Biol*. 2007;52(11):1043-7.

Wiegand A, Magalhães AC, Navarro RS, Schmidlin PR, Rios D, Buzalaf MA et al. Effect of titanium tetrafluoride and amine fluoride treatment combined with carbon dioxide laser irradiation on enamel and dentin erosion. *Photomed Laser Surg*. 2010b;28(2):219-26.

Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Ziebolz D, et al. Impact of toothpaste slurry abrasivity and toothbrush filament stiffness on abrasion of eroded enamel - an in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2008b;66(4):231-5.

Wilder AD Junior, Swift EJ Junior, Heymann HO, Ritter AV, Sturdevant JR, Bayne SC. A 12-year clinical evaluation of a three-step dentin adhesive in noncarious cervical lesions. *J Am Dent Assoc*. 2009;140:526-35.

Wilder-Smith CH, Wilder-Smith P, Kawakami-Wong H, Voronets J, Osann K, Lussi A. Quantification of dental erosions in patients with GERD using optical coherence tomography before and after double-blind, randomized treatment with esomeprazole or placebo. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(11):2788-95.

Wiltshire WA, Labuschagne PW. Staining of light-cured aesthetic resin restorative material by, different staining media: An in vitro study. *J Dent Assoc South Afr*. 1990;45(12):561-5.

Yap AU, Lim LY, Yang TY, Ali A, Chung SM. Influence of dietary solvents on strength of nanofill and ormocer composites. *Oper Dent*. 2005;30(1):129-33.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 2004;83(6):454-8.

Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y et al. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res*. 2002;59(1):56-62.

Young A, Amaechi BT, Dugmore C, Holbrook P, Nunn J, Schiffner U et al. Current erosion indices--flawed or valid? Summary. *Clin Oral Investig*. 2008;12(Suppl 1):S59-63.

Yu H, Wegehaupt FJ, Wiegand A, Malgorzata R, Attin T, Buchalla W. Erosion and abrasion of tooth-colored restorative materials and human enamel. *J Dent*. 2009; 37(12):913-22.

Zanchi CH, Lund RG, Perrone LR, Ribeiro GA, del Pino FA, Pinto MB, Demarco FF. Microtensile bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems on sound and artificial caries-affected dentin. *Am J Dent*. 2010; 23(3):152-6.

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

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

Zero DT, Lussi A. Erosion – chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J*. 2005; 55(4):285-9

Anexos

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

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

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
mferrari@fob.usp.br

Processo nº 102/2008

Bauru, 6 de abril de 2009.

Senhora Professora,

Informamos que após o envio da documentação solicitada referente ao projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa "***Efeito do processo erosivo causado por diferentes bebidas na resistência a união de diferentes sistemas adesivos em superfície de esmalte. Análise in vitro e in situ/ex vivo***" de sua autoria juntamente aos Profs. Drs. Daniela Rios, Maria Teresa Atta, Eduardo Batista Franco e Marília Afonso Rabelo, foi novamente analisado e considerado **APROVADO** por este Colegiado, em reunião realizada no dia **25 de março de 2009**.

Solicitamos que ao término do trabalho, seja enviado a este Comitê um relatório final para novo parecer, o qual será utilizado para publicação científica.

Atenciosamente,

Profª Drª Ana Lúcia Alvares Capelozza

Vice-Coordenadora, em exercício

Profª Drª Linda Wang

Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários