

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

RENATO GONÇALVES DOS REIS

Análise longitudinal das restaurações de resina composta realizadas em dente erodido tratado com nanoformulação de quitosana contendo chá verde

Ribeirão Preto

2020

RENATO GONÇALVES DOS REIS

Análise longitudinal das restaurações de resina composta realizadas em dente erodido tratado com nanoformulação de quitosana contendo chá verde

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Mestre em Ciências – Programa: Odontologia Restauradora. Área de Concentração: Odontologia Restauradora (Opção: Dentística).

Orientadora: Prof^a Dr^a Silmara Aparecida Milori Corona

Ribeirão Preto

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE SEJA CITADA A FONTE.

Assinatura do autor: _____ Data: ___/___/2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Reis, Renato Gonçalves.

Análise longitudinal das restaurações de resina composta realizadas em dente erodido tratado com nanoformulação de quitosana contendo chá verde, 2020.

86p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP), área de concentração: Odontologia Restauradora – Opção: Dentística.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Silmara Aparecida Milori Corona

1.Estudo clínico, 2.Chá verde, 3.Quitosana, 4.Erosão, 5.Nanopartículas.

FOLHA DE APROVAÇÃO

REIS, Renato Gonçalves dos. Análise longitudinal das restaurações de resina composta realizadas em dente erodido tratado com nanoformulação de quitosana contendo chá verde.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Mestre em Ciências – Programa: Odontologia Restauradora. Área de Concentração: Odontologia Restauradora (Opção: Dentística).

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____



Este trabalho de pesquisa foi realizado nas dependências clínicas da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e no Departamento de Odontologia Restauradora. Bolsa de pesquisa CNPq (Processo nº 130194/2019-0).

*D*edicatória

Aos meus pais **Francino Gonçalves dos Reis e Carolina Fernandes dos Reis**, meus exemplos, minha base, pelo zelo que sempre tiveram por mim, pela paciência e o amor que nunca me foi negado. O amor que sinto por vocês não cabe em palavras. Sou eternamente grato por tudo!

A minha esposa **Patrícia Bressan dos Reis** e aos meus queridos filhos **Carolina Bressan dos Reis e Bruno Bressan dos Reis**, que com muito amor carinho tenho a oportunidade de compartilhar os melhores momentos de minha vida.

Aos meus irmãos **Fernando Gonçalves dos Reis, Ana Maria Gonçalves dos Reis e Márcio Rogério Gonçalves dos Reis** pelo amor e companheirismo compartilhado.

Aos meus amigos que estiveram presentes durante o mestrado, companheiros de trabalho e almoço. Agradeço em especial, ao meu grande amigo que tive a felicidade de conhecer, **Thiago Vinicius Cortez**, pelo apoio, companheirismo, conselhos, momentos de alegria e dificuldade compartilhados durante esta jornada.

*A*gradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo – FORP/USP**, tendo como diretor **Paulo Nelson Filho** por possibilitar o desenvolvimento deste estudo.

À **Prof.^a Dr.^a Silmara Aparecida Milori Corona**, por toda paciência, desde primeiro dia, onde fui recepcionado de uma maneira humana e acolhedora. Profissional que nos inspira pelas suas atitudes de carinho, atenção e disposição de sempre fazer o bem, seja para seus alunos ou seus pacientes que sempre são atendidos da melhor maneira e total respeito. Agradeço pela orientação, desde, pelos sábios conselhos e ensinamentos que me foram transmitidos durante esses 2 anos, pela convivência, confiança em mim depositada e por sempre me receber de braços abertos em todos os momentos que necessitei. Sou imensamente grato por todo seu auxílio na realização deste projeto. Obrigado, por incentivar, apoiar, acalmar e orientar durante todo esse período. Você foi de extrema importância para meu crescimento pessoal e profissional. Sempre a terei como exemplo a ser seguido.

Ao **Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho**, coordenador do Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, agradeço pelas oportunidades a mim concedidas e por ter me acolhido no Programa para a realização dos meus estudos.

Profissional retilíneo de atitudes firmes e diretas no sentido de sempre estar somando e evoluindo toda a equipe.

Ao **Prof. Dr. Manoel Damião de Souza Neto**, chefe do Departamento de Odontologia Restauradora. Agradeço pelas oportunidades e por todos os ensinamentos voltados à endodontia que me foram transmitidos durante o período de graduação. Contribuindo assim de maneira exemplar para nosso crescimento.

A **Prof.^a Dr.^a Aline Evangelista de Souza Gabriel**, por todo aprendizado, motivação, dedicação, atenção, carinho, seus conhecimentos foram de fundamental importância para a realização deste projeto. Sempre disposta a contribuir sendo assim de suma importância para harmonia, equilíbrio e direcionamento das nossas prioridades e metas. Tenha sempre minha gratidão.

Ao **Prof.^o Dr.^o Antônio Claudio Tedesco** pela importante contribuição na elaboração da nanoformulação e realização dos testes de caracterização da solução utilizada neste estudo. Agradeço por sempre estar disponível e pelo aprendizado.

A **Pós Doutoranda Lisiane Martins** pelo carinho e aprendizado, por todo conhecimento transmitido, pela contribuição e valiosas considerações durante a banca de qualificação.

Aos demais **professores do Departamento de Odontologia Restauradora** pelo grande exemplo, empenho e dedicação ao demonstrarem o quanto pode ser encantadora a carreira acadêmica.

A **Prof.^a Dr.^a Carolina Paes Torres Mantovani** pelo seu incentivo, apoio que foi realmente um diferencial para que eu acreditasse que tudo isso seria possível.

Meu muito obrigado

A pós-doutoranda **Fabiana Curylofo** pela amizade, pelos conselhos, e todo auxílio e contribuições com esse trabalho, amiga sempre esteve ali presente e criando condições para que todo trabalho tivesse êxito. Muito obrigado!

Aos amigos da pós-graduação, **Bruna Abreu, Isabella Quero, Juliane Rodrigues, Larissa Dantas, Laís Peloso, Leonardo Lobo, Miguel Angel, Suemy Kitayama e Thiago Vinicius Cortez** pela companhia, amizade durante essa etapa.

Aos alunos do **laboratório e da clínica de graduação em Dentística FORP-USP**, agradeço a oportunidade de participar no processo de ensino e aprendizado de vocês.

Aos técnicos de Laboratório **Patrícia Marchi e Luandra Aparecida Unten Takahashi**, por sua companhia, estímulo e pela atenção dispensada.

As funcionárias **Maria Amália Oliveira, Maria Isabel, Rosângela Angelini**, e funcionários, **Fred Augusto** e **Carlos Feitosa** agradeço por sempre me receberem bem e me dar todo auxílio e suporte quando necessário, pelo companheirismo e amizade que tive alegria de conquistar.

A todos participantes desta pesquisa pela cooperação, empenho e preocupação dispendidas a este trabalho.

Ao **CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico**, por incentivar sempre as pesquisas, criando assim novas oportunidades de estudo.

*“A caverna que você tem medo de entrar
guarda o tesouro que procura.”*

(Joseph Campbell)

*R*_{esumo}

REIS, R.G. Análise longitudinal das restaurações de resina composta realizadas em dente erodido tratado com nanoformulação de quitosana contendo chá verde.

A adesão de restaurações de compósitos à dentina erodida apresenta longevidade clínica comprometida devido a degradação das fibrilas de colágeno, sendo que, a utilização de biomodificadores visam melhorar a interface adesiva em procedimentos restauradores. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da biomodificação com nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) (NanoCsQ) em lesões de erosão por meio de análise clínica e fotográfica das restaurações realizadas. A amostra foi composta por 20 pacientes entre 20 e 50 anos que apresentavam lesões de erosão não cariosas, de profundidade rasa ou média, localizadas na superfície palatina e/ou lingual, oclusal e/ou incisal de dois dentes homólogos. Os dentes de cada paciente foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (n=20) de acordo com o tratamento da superfície da dentina: 1) Controle (sem biomodificação) e 2) NanoCsQ. Foi realizado condicionamento com ácido fosfórico a 35%, e em seguida, a lavagem da cavidade. A biomodificação com NanoCsQ foi realizada por 1 minuto, e a superfície foi seca com papel absorvente. Em seguida, as lesões foram restauradas com sistema adesivo (Tetric N-bond - Ivoclar) e resina composta (IPS - Ivoclar). As restaurações foram polidas, e após 7 dias, 6 meses e 12 meses avaliadas segundo os critérios United States Public Health Service (USPHS) modificados. Os dados foram analisados descritivamente e também pelos testes de Friedman e Wilcoxon ($\alpha=5\%$). Durante o período analisado, 100% das restaurações receberam escores alpha para os critérios descoloração marginal, adaptação marginal e sensibilidade pós-operatória. Para o critério retenção, 90% das restaurações apresentaram escore alpha e apenas 10% das restaurações controle apresentaram escore charlie aos 12 meses, sem diferença significativa entre os tratamentos ($p=0,432$), períodos (*baseline*, 6 meses e 1 ano) ($p=0,500$) e interação tratamento x período ($p=0,126$). Na análise fotográfica, todas restaurações receberam escore alpha para os critérios analisados. Concluiu-se que após um ano, a biomodificação da dentina erodida com nanoformulação de quitosana contendo chá verde não afetou o desempenho das restaurações de resina composta.

Palavras-chave: Estudo clínico, chá verde, quitosana, erosão, nanopartículas.

*A*bstract

REIS, R.G. Longitudinal analysis of composite resin restorations performed on eroded tooth treated with chitosan nanoformulation containing green tea.

The adhesion of composite restorations to eroded dentin has compromised clinical longevity due to the degradation of collagen fibrils, and the use of biomodifiers aims to improve the adhesive interface in restorative procedures. The aim of this study was to evaluate the influence of biomodification with chitosan nanoformulation containing green tea (*Camellia sinensis*) (NanoCsQ) on erosion lesions through clinical and photographic analysis of the restorations performed. The sample consisted of 20 patients between 20 and 50 years old who had non-carious erosion lesions, shallow or medium in depth, located on the palatal and / or lingual, occlusal and / or incisal surfaces of two homologous teeth. The teeth of each patient were randomly divided into two groups (n = 20) according to the dentin surface treatment: 1) Control (without biomodification) and 2) NanoCsQ. Conditioning was carried out with 35% phosphoric acid, and then the cavity was washed. Biomodification with NanoCsQ was performed for 1 minute, and the surface was dried with absorbent paper. Then, the lesions were restored with an adhesive system (Tetric N-bond - Ivoclar) and composite resin (IPS - Ivoclar). The restorations were polished, and after 7 days, 6 months and 12 months were evaluated according to the modified United States Public Health Service (USPHS) criteria. The data were analyzed descriptively and also by the Friedman and Wilcoxon tests ($\alpha = 5\%$). During the analyzed period, 100% of the restorations received alpha scores for the criteria of marginal discoloration, marginal adaptation and postoperative sensitivity. For the retention criterion, 90% of the restorations had an alpha score and only 10% of the control restorations had a Charlie score at 12 months, with no significant difference between treatments ($p = 0.432$), periods (baseline, 6 months and 1 year) ($p = 0.500$) and treatment x period interaction ($p = 0.126$). In the photographic analysis, all restorations received an alpha score for the analyzed criteria. It was concluded that after one year, the biomodification of eroded dentin with chitosan nanoformulation containing green tea did not affect the performance of composite resin restorations.

Keywords: Clinical study, green tea, chitosan, Erosion, nanoparticles.

*S*umário

SUMÁRIO

| | | |
|---|---------------------------------|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 35 |
| 2 | PROPOSIÇÃO..... | 41 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 46 |
| 4 | RESULTADOS..... | 57 |
| 5 | DISCUSSÃO..... | 65 |
| 6 | CONCLUSÃO..... | 71 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 76 |
| | ANEXOS..... | 83 |

*I*ntrodução

A erosão dental caracteriza-se pela perda irreversível e progressiva de estrutura dental, ocasionada por processos químicos não bacterianos, de origem intrínseca e/ou extrínseca (Warreth et al., 2020). A erosão intrínseca ocorre pelo contato de ácido gástrico aos substratos dentários (ten Cate; Imfeld, 1996) durante regurgitação, vômitos recorrentes ou refluxo gastroesofágico de origem psicossomática (anorexia e bulimia) ou somática (gravidez, alcoolismo e alguns problemas gastrointestinais) (Kanzow et al., 2016; Moazzez et al., 2018). A erosão extrínseca é provocada pela ação de ácidos exógenos, originados na dieta (bebidas ácidas) (Amaechi; Higham, 2005), e no uso de fármacos ou drogas (Thomas et al., 2015).

O amolecimento da superfície dentinária durante o processo erosivo, afeta negativamente a adesão a esse substrato (Lussi et al., 2011). A matriz orgânica da dentina erodida dificulta a infiltração do adesivo, devido ao alto conteúdo de água das fibras colágenas e a possibilidade de colapso das mesmas, o que prejudica a hibridização e acelera a degradação da interface adesiva (Zimmerli et al., 2012). A aplicação de substâncias biomodificadoras, como a quitosana, pode melhorar a resistência mecânica do colágeno, aumentando sua resistência à degradação das fibrilas colágenas, usadas como suporte para estabelecimento das interfaces adesivas (Scheffel et al., 2014; Fakhri et al., 2020).

A quitosana, biopolímero hidrófilo a base de quitina, é, depois da celulose, o polissacárido mais abundante na natureza (Spin-Neto et al., 2012). Sua estrutura é formada por um polícatión linear, com alta densidade de carga e grupos reativos, assim como várias pontes de hidrogênio (Tavaria et al., 2013). Estas pontes são arranjadas paralelamente, o que lhe confere alta resistência (Muzzarelli et al., 2002). A quitosana possui ainda propriedades como: biocompatibilidade, bioadesão,

biodegradabilidade e atoxicidade em células humanas (Pimenta et al., 2012; Husain et al., 2017), além de atividade antimicrobiana (Elsaka; Elnaghy, 2012) e capacidade quelante (Rabea et al., 2003; Silva et al., 2012).

Biomateriais de quitosana também são considerados aceleradores da reparação tecidual, visto que podem intensificar a produção de matriz extracelular pelo aumento da liberação de fatores de crescimento (Ueno et al., 2001). Em relação à matriz orgânica dentinária, esta é reforçada a partir de ligações cruzadas que ocorrem na incorporação da quitosana. O uso da quitosana reforça (Profeta et al., 2012; Fawzy et al., 2013) e estabiliza (Bedran-Russo et al., 2007; Shrestha et al., 2011) o colágeno da dentina, aumentando o número de ligações cruzadas entre as fibras colágenas e neutralizando as metaloproteinases da matriz, visto que este biopolímero pode produzir arranjos microfibrilares (Majeti; Kumar, 2000) de melhores propriedades mecânicas (Dash et al., 2011) em matrizes orgânicas, como as constituídas de fibras colágenas. Estas ligações cruzadas consistem na união de moléculas por meio de ligações covalentes (Tjäderhane et al., 2013; Scheffel et al., 2014), processo utilizado para estabilizar tecidos biológicos (Amaral; Solari, 2009).

O extrato da *Camellia sinensis*, um biomodificador natural, quando não fermentado, é rico em polifenóis como as catequinas, incluindo a epicatequina (EC), epigalocatequina (EGC) e a Epigalocatequina-3-galato (EGCG) (Nishimura et al., 2007). O extrato de *Camellia sinensis* tem sido estudado para aplicação em dentina por apresentar efeito inibitório das enzimas que degradam o colágeno (Aguiar et al., 2014). As catequinas presentes, principalmente a EGCG, apresentam potencial de induzir ligações cruzadas com as fibrilas de colágeno e impedir o livre acesso das colagenases às cadeias dos sítios ativos do colágeno (Jackson et al., 2010),

mostrando-se efetiva em preservar a resistência de união dentina-resina por até 6 meses (Santiago et al., 2013).

Devido à presença de múltiplos anéis fenólicos aromáticos em sua estrutura, o EGCG possui maior atividade antioxidante que os antioxidantes não-fenólicos ou monofenólicos (Shpigelman et al., 2012). Além de boas propriedades anti-inflamatórias e ação antimicrobiana (Karygianni et al., 2016). Os polifenóis presentes inibem o crescimento, a produção de ácido, o metabolismo e a atividade da glicosiltransferase (GTF) de *Streptococcus mutans* e outras bactérias da placa dental (Sasaki et al., 2004), além disso, possui a capacidade de diminuir a síntese de polissacarídeos extracelulares (EPS), inibindo a aderência celular e a formação de biofilme (Xu et al., 2012).

Estudos avaliaram o efeito anti-erosivo de soluções contendo nanopartículas de β -fosfato tricálcico (β -TCP) funcionalizadas com flúor, encontrando resultados promissores no efeito protetor contra a erosão dentinária (Mathews et al., 2012; Viana et al., 2020). Diante do exposto, torna-se importante avaliar os efeitos da *Camellia sinensis* encapsulada por nanopartículas de quitosana na durabilidade de restaurações de resina composta realizadas em tecido dental erodido.

P
roposição

O presente estudo teve por objetivo avaliar clinicamente a biomodificação da dentina erodida com nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) nos períodos *baseline* (7 dias após a confecção da restauração), 6 meses e 12 meses, por meio de exame clínico e fotográfico, utilizando os critérios *United States Public Health Service* (USPHS) modificados.

*M*ateriais e *M*étodos

Delineamento Experimental

Para realização do experimento foram selecionados pacientes entre 20 e 50 anos que apresentavam lesões de erosão não cariosas, de profundidade rasa ou média, localizadas na superfície palatina e/ou lingual, oclusal e/ou incisal de dois dentes homólogos. Os dentes de cada paciente foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (n=20) de acordo com o tratamento da superfície da dentina: 1) Controle (sem biomodificação) e 2) Nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) (NanoCsQ). As variáveis de resposta analisadas: 1) avaliação clínica longitudinal das restaurações, por meio de exame clínico USPHS modificado, nos períodos após 7 dias da restauração, 6 e 12 meses; e 2) avaliação fotográfica das restaurações nos mesmos períodos da análise clínica.

Aspectos éticos e legais

Este estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (CAAE: 23972619.8.0000.5419), Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil – FORP/USP (Anexo I). Os participantes/responsáveis foram informados sobre a metodologia, os riscos e benefícios da pesquisa, bem como a possibilidade de desistência em qualquer fase da mesma. Os mesmos também convidados a assinar um “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” TCLE (Anexo II). Esse estudo foi registrado na plataforma ReBEC (Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos) (Número UTC: 1111-1245-1517) (anexo III).

Cálculo amostral

Para determinar o tamanho da amostra do estudo, foi utilizado o site de cálculo amostral www.sealedenvelope.com (Sealed Envelope Ltd.), com os seguintes parâmetros $\alpha=5\%$, poder 90%, porcentagem do sucesso do grupo controle e experimental em 98% e limite de equivalência a 15%. Dessa forma, foi determinado o número mínimo 18 de pacientes.

Seleção dos pacientes e dentes

Foram examinados pacientes na Clínica de Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto com idade entre 20 e 50 anos, de ambos os gêneros. Os pacientes foram submetidos à profilaxia com pasta de pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água, realizada com taça de borracha (Jon, São Paulo, SP, Brasil) em superfícies lisas e escova de Robinson (Jon, São Paulo, SP, Brasil) nas superfícies oclusais, ambas conectadas ao micromotor (Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O exame clínico foi realizado sob iluminação adequada após a profilaxia.

Os pacientes receberam também instrução de dieta e informações sobre o tratamento de lesões corrosivas, além de higiene bucal individualizada. O critério de inclusão do paciente foi a presença de pelo menos quatro lesões erosivas não cariosas, de profundidade rasa ou média, localizadas na superfície palatina e/ou lingual, oclusal e/ou incisal de dois dentes homólogos. Os dentes apresentaram resposta positiva ao teste térmico realizado com Endofrost (Roeko, Langenau, Alemanha).

Foram excluídos da pesquisa os pacientes que apresentaram dentes com dor e/ou sensibilidade espontânea, fístula e/ou edema. Foram preenchidas as fichas de anamnese e os odontogramas, relativos às condições gerais de saúde.

Os dentes dos pacientes que apresentaram necessidade de tratamento e que não foram selecionados para a pesquisa serão tratados na Clínica de Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP).

Tratamento das lesões de erosão

A randomização dos pacientes foi realizada utilizando uma planilha de computador. Com a ajuda de um gerador de números aleatórios disponível no website <http://randomnumbergenerator.intemodino.com/pt/>, os pacientes selecionados tiveram seus nomes numerados a fim de ordenar o tratamento. Os dentes dos pacientes foram distribuídos aleatoriamente entre o método de tratamento da dentina erodida: controle (sem biomodificação) e NanoCsQ, por meio de lançamento de moeda (cara ou coroa). Foi realizado o tratamento de dois dentes em cada sessão clínica.

Antes da realização de isolamento de campo operatório criterioso, foram realizadas as fotografias iniciais dos dentes a serem restaurados (Canon EOS Rebel T2i 18.0 Megapixels, Cannon, Japão). Para a seleção da cor da resina composta IPS Empress Direct (Ivoclar) foi utilizada a escala de cores Vita 3D (Wilcos do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil).

O isolamento de campo operatório foi realizado empregando a técnica modificada com lençol de borracha (Madeitex, São José dos Campos, SP, Brasil), e grampos de vários números (Duflex, SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), de acordo com a morfologia dentária de cada dente (Croll, 1995).

Preparo do biomodificador de nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) (NanoCsQ)

As nanopartículas de quitosana (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) de baixo peso molecular (75-85% de desacetilação) foram preparadas pelo método de gelificação iônica a partir do cross-linking da quitosana com o TPP em meio moderadamente ácido (próximo a 5.0).

As nanopartículas foram sintetizadas e caracterizadas a partir de testes preliminares realizados no NanoBioLab da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Nanopartículas de quitosana, 2,5% (p / v), foram preparadas usando uma quitosana de baixo peso molecular (75-85% de desacetilação) comercialmente disponível (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA). O extrato de *Camellia sinensis* (Green Tea Extract 400mg, NOW Supplements, USA), 0,3% (w / v), foi incorporado às nanopartículas de quitosana pelo método de gelificação iônica baseado em Canepa et al. 2017.

Para espécimes que receberam o biomodificação da dentina, foram aplicados 0,1 mL do gel de nanopartícula de quitosana + *Camellia Sinensis* sobre a dentina, o qual permaneceu na superfície por 1 min, seguida por secagem com papel absorvente (Adaptado de Ururahy et al., 2017).

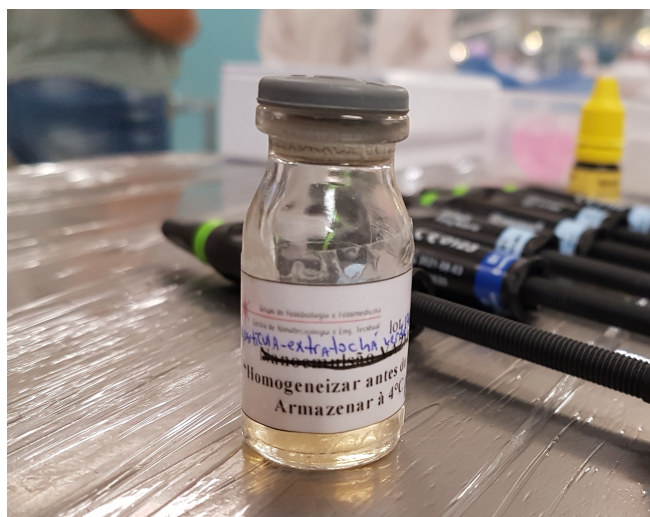


Figura 1 –Biomodificador de nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) (NanoCsQ)

Tratamento restaurador

Todos os dentes restaurados receberam o condicionamento seletivo com ácido fosfórico 35% por 30 segundos em esmalte apenas. Após o condicionamento, foi realizada a lavagem da cavidade com água durante 1 minuto, remoção do excesso de água com cânula de sucção e secagem com bolinhas de algodão.

Para os dentes destinados a biomodificação com nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*), foi aplicado o biomodificador com microbrush (KGBrush, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil), de forma ativa, por 1 minuto, seguida de secagem, com papel absorvente.

O sistema adesivo Tetric N-Bond (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein, Alemanha) (figura 2), foi aplicado em 2 camadas com aplicador descartável microbrush (KGBrush, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil), de forma ativa por 20 segundos, e fotoativado por 10 segundos (Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil) em todos os dentes que foram restaurados, seguindo instruções do fabricante.



Figura 2 – Sistema Adesivo Tetric N-Bond

Para a restauração das lesões erosivas foi utilizada a resina composta IPS Empress Direct (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein, Alemanha) (figura 3), utilizando a técnica incremental com espátula para resina, fotoativados por 20 segundos cada incremento, devolvendo a forma anatômica aos dentes.



Figura 3 - Resina composta IPS Empress Direct (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein, Alemanha).

Terminada a restauração, foi removido o isolamento e realizado o ajuste oclusal com papel carbono (Angelus, Londrina, PR, Brasil). Os contatos prematuros

e interferências oclusais foram removidos por meio do ajuste oclusal, utilizando-se pontas diamantadas (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil). Posteriormente, foram utilizadas pontas diamantadas (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) e disco Sof-Lex (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) para acabamento. Os pacientes retornaram após sete dias, para polimento final da restauração com pontas abrasivas (Enhance, Dentisply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil), análise clínica e realização das fotografias intrabucais baseline para análise fotográfica posterior das mesmas (figura 4).

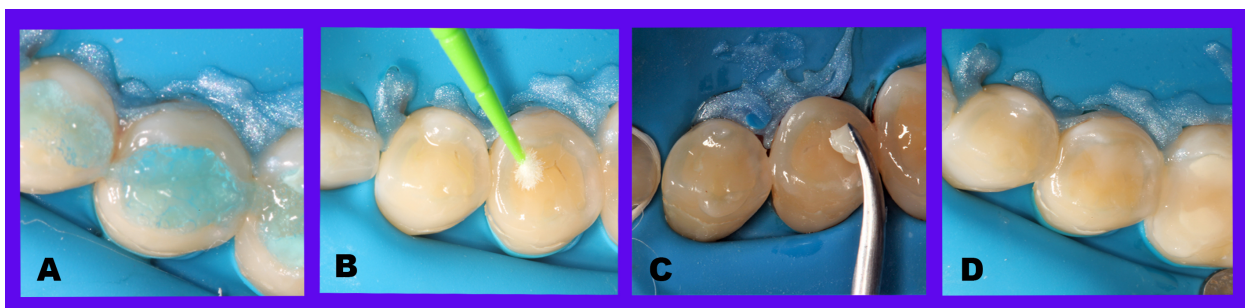


Figura 4 – A Condicionamento com ácido fosfórico; B. Biomodificador de nanoformulação com chá verde (NanoCsQ); C. Aplicação da resina composta IPS (Ivoclar); D. Foto após polimento.

Avaliação clínica e fotográfica das restaurações

Os dentes foram avaliados por meio de análise clínica e fotográfica 7 dias após a confecção da restauração (após o polimento – baseline), após 6 e serão avaliados após 12 meses.

A análise clínica das restaurações foi realizada de forma independente, por três examinadores, seguindo os critérios USPHS modificados (Cvar; Ryge, 2005), que incluem a análise da retenção, descoloração marginal e adaptação marginal. As restaurações foram classificadas na categoria: Alpha – pois não apresentaram problemas e a restaurações estava em perfeita condições. (Tabela 1).

Tabela 1 – Critérios USPHS modificados que serão utilizados durante a avaliação clínica das restaurações.

| Categoria | Escore | Critério |
|------------------------------|----------------|--|
| Retenção | <i>Alpha</i> | Sem perda de material restaurador |
| | <i>Charlie</i> | Com perda de material restaurador |
| Descoloração marginal | <i>Alpha</i> | Sem descoloração marginal |
| | <i>Bravo</i> | Leve descoloração marginal, sem penetração axial |
| | <i>Charlie</i> | Descoloração axial com penetração axial |
| Cárie secundária | <i>Alpha</i> | Sem recorrência de cárie |
| | <i>Charlie</i> | Com recorrência de cárie |
| Adaptação marginal | <i>Alpha</i> | Perfeitamente adaptáveis, sem margens visíveis |
| | <i>Bravo</i> | Margem visível, porém, clinicamente aceitável |
| | <i>Charlie</i> | Desadaptação marginal, falha clínica |
| Sensibilidade pós-operatória | <i>Alpha</i> | Sensibilidade estimulada ausente. |
| | <i>Charlie</i> | Sensibilidade estimulada presente. |

As avaliações qualitativas fotográficas foram realizadas 7 dias após o término do tratamento (baseline; logo após o polimento da restauração), após 6 e 12 meses da realização do tratamento.

As fotografias intra-bucais foram realizadas com máquina digital (Canon EOS Rebel T2i 18.0 Megapixels, Cannon, Japão) e espelho bucal para fotografia, registrando dos dentes restaurados. A avaliação das fotografias foi feita por três examinadores, de forma cega e individual, por meio da visualização das imagens em tela de notebook, sob mesmo ambiente e iluminação, seguindo os critérios USPHS (Cvar; Ryge, 2005), que incluem a análise da cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica (Tabela 2).

Tabela 2 – Critérios USPHS modificados que foram utilizados durante a avaliação fotográfica das restaurações.

| Categoria | Escore | Critério |
|----------------------|----------------|--|
| Cor da restauração | <i>Alpha</i> | Corresponde à estrutura dental adjacente em termos em de cor e translucidez |
| | <i>Bravo</i> | Ligeira alteração em termos de cor, tonalidade ou translucidez entre a restauração e o dente adjacente |
| | <i>Charlie</i> | Alteração de cor e translucidez nítida |
| Pigmentação Marginal | <i>Alpha</i> | Ausência de pigmentação ao longo da margem entre a restauração e o dente adjacente |
| | <i>Bravo</i> | Pigmentação ligeira ao longo da margem entre a restauração e o dente adjacente Pigmentação presente ao longo da margem da restauração |
| | <i>Charlie</i> | |
| Forma anatômica | <i>Alpha</i> | Restauração em continuidade com a forma anatômica existente |
| | <i>Bravo</i> | Restauração em descontinuidade com a forma anatômica do dente |
| | <i>Charlie</i> | Perda de material, expondo dentina ou base da restauração |

Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada por meio do software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS versão 25.0, Chicago, IL, EUA) com nível de significância de 5%. A análise dos dados baseou-se em estatísticas descritivas e inferenciais. A estatística descritiva foi utilizada para descrever a frequência da distribuição dos escores USPHS modificados, incluindo a porcentagem de restaurações com falhas.

A análise estatística inferencial empregou o teste não-paramétrico de Friedman e o teste de Wilcoxon de medidas repetidas para os diferentes períodos de análise (*baseline*, 6 meses e 12 meses) e interações entre tratamento e período de análise. O teste de Cohen Kappa foi utilizado para a comparação da concordância intra e inter-examinadores.

*R*esultados

Os pacientes deste estudo apresentaram faixa etária de entre 20 e 50 anos (idade média de 30 anos) de ambos os sexos (10 homens e 10 mulheres). Dentre os dentes restaurados (n=40), ocorreu uma similaridade para a posição nas arcadas superior e inferior, sendo 12 dentes anteriores e 28 posteriores.

Avaliação clínica

O índice Kappa intra-examinador foi 1,0 para ambos os examinadores (entre A e A, e entre B e B). O índice inter-examinador (entre A e B) foi de 0,98.

Para o critério retenção verificou-se, 100% de escore alpha após 6 e 12 meses, quando os dentes foram tratados com nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) (n=20). No grupo sem tratamento prévio à restauração (controle), após 6 meses, o escore alpha foi encontrado em 100% (n=20) das restaurações e, após 12 meses, o escore alpha foi encontrado em 90% das restaurações (n =18) e 10% (n=2) apresentaram escore Charlie.

A análise estatística dos dados para o critério retenção não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos propostos (nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) x sem tratamento) (p=0,432). Também não houve diferença significativa entre os períodos de análise (baseline, 6 meses e 1 ano) (p=0,500) e entre a interação tratamento x período de análise (p=0,126).

Com relação aos demais critérios analisados no estudo (descoloração marginal, cárie secundária, adaptação marginal e sensibilidade pós-operatória), verificou-se que não houve alteração nos escores, nos diferentes períodos de análise para ambos os grupos experimentais (nanoformulação de quitosana

contendo chá verde (*Camellia sinensis*) e controle), assim todas as restaurações mantiveram o escore alpha (100%, n=20).

Avaliação fotográfica

Dentro do período de avaliação de 12 meses, para todos os critérios fotográficos (cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica), 100% das restaurações receberam escore alpha. Assim, não houve diferença entre as restaurações com biomodificação da dentina erodida com nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) nos períodos 7 dias (baseline), 6 meses e 12 meses (Figura 5 e Tabela 4) .



Figura 5 – A. Aspecto Inicial dos dentes 44 e 45 ; B. Baseline (7 dias) dos dentes 44 e 45 ; C. Avaliação de 6 meses dos dentes 44 e 45 ; D. Avaliação de 12 meses dos dentes 44 e 45; E. Aspecto inicial dos dentes 34 e 35; F. Baseline dos dentes 34 e 35; G. Avaliação de 6 meses dos dentes 34 e 35; H. Avaliação de 12 meses dos dentes 34 e 35; I. Aspecto inicial dos dentes 13 e 14 (face palatina); J. Baseline dos dentes 13 e 14; K. Avaliação de 6 meses dos dentes 13 e 14; L. Avaliação de 12 meses dos dentes 13 e 14.

Tabela 3 – Dados obtidos na análise clínica com base nos critérios USPHS modificados.

| Tratamento | Período de análise | | Retenção | | | Descoloração | | | Cárie secundária | | | Adaptação marginal | | | Sensibilidade pós-operatória | | |
|--|----------------------|----------------|----------|----|-----|--------------|---|-----|------------------|---|-----|--------------------|---|-----|------------------------------|---|---|
| | | | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| Controle (sem Biomodificador) | Baseline (7 dias) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | 06ant. | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - |
| | | 12post. (%) | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| | (6 meses) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - |
| | | | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| (1 ano) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | |
| | (%) | 18 | - | 2 | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | |
| | | 90 | - | 10 | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | |
| Biomodificador de nanoformulação (NanoCsQ) + (<i>Camellia sinensis</i>) | Baseline (7dias) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - |
| | | | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| | (6 meses) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - |
| | | | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| (1 ano) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | |
| | (%) | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - | |
| | | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - | |

Tabela 4 – Dados obtidos na análise fotográfica com base nos critérios USPHS modificados.

| Tratamento | Período de análise | | Cor da restauração | | | Pigmentação marginal | | | Forma anatômica | | |
|--|----------------------|--------------------------|--------------------|---|---|----------------------|---|---|-----------------|---|---|
| | | | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| Controle (sem Biomodificador) | Baseline (7 dias) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | 06ant. 12post. (%) | 20 | - | - | 20 | - | - | 20 | - | - |
| | (6 meses) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| | (1 ano) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| Biomodificador de nanoformulação (NanoCsQ) + (<i>Camellia sinensis</i>) | Baseline (7dias) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| | (6 meses) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |
| | (1 ano) | n = 20 | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| | | (%) | 100 | - | - | 100 | - | - | 100 | - | - |

*D*iscussão

A erosão dentinária é um processo complexo caracterizado pela dissolução mineral, que expõe a matriz orgânica à degradação por bactérias e enzimas, tais como MMPs (Metaloproteinases) (Cruz et al., 2015; Tjäderhane et al 2015).

Nas lesões de erosão, os prismas de esmalte são dissolvidos abaixo do nível do tecido adjacente, resultando numa superfície com fissuras, semelhante a um favo de mel. Com a progressão da lesão para a dentina, a dentina peritubular é afetada, os túbulos dentinários tornam-se mais largos, afetando também a dentina intertubular (Catelan et al., 2010), causando alterações nos procedimentos restauradores adesivos. Dentre os desafios estão a obtenção de adequada retenção e integridade marginal nas lesões cervicais não cariosas, pois elas apresentam uma camada heterogênea e hiperpermeabilizada, alto teor de cristalinidade, colágeno parcialmente desnaturado e minerais intratubulares, por essas características as lesões são mais resistentes ao condicionamento ácido comparado a um tecido dentinário não erodido, o que dificulta a adesão da resina composta á dentina (Karan et al., 2009), Estas alterações interferem na longevidade clínica do tratamento restaurador no substrato erodido (Wilder et al., 2009; Vailati et al., 2013).

Substâncias biomodificadoras, como a quitosana e o chá verde, apresentam grande potencial contra a erosão dentinária (Fakhri et al., 2020; Passos et al., 2018). A quitosana, vem sendo utilizada na tentativa de melhorar a resistência mecânica do colágeno, aumentando sua resistência à degradação das fibrilas colágenas, usadas como suporte para estabelecimento das interfaces adesivas obtidas nas restaurações em resinas compostas (Scheffel et al., 2014; Fakhri et al., 2020). Diversos benefícios foram demonstrados pelo uso da solução de quitosana nos tecidos dentinários, dentre eles o aumento na resistência da superfície da dentina (Sherestha et al., 2012), aumento na resistência mecânica de restaurações

contribuindo com diminuição da degradação hidrolítica das fibras colágenas por ação de colagenases (Fawzy et al., 2013). Observa-se na literatura que quitosana promove preservação do colágeno e eficácia na prevenção e tratamento da erosão dentária (Beltrame et al., 2018; Souza et al., 2020) fatores estes que podem contribuir para a maior longevidade clínica das restaurações de lesões erosivas.

Os efeitos da quitosana e do chá verde presentes no biomodificador utilizado na presente pesquisa, tais como, o efeito protetor do colágeno promovidos pela quitosana (Beltrame et al., 2018; Souza et al., 2020) e o aumento nos resultados de resistência união de restaurações adesivas quando se utilizou o chá verde (Souza-Gabriel et al., 2020; de Macedo et al., 2019) podem ter contribuído para a longevidade das restaurações analisadas, no entanto, eficácia do chá verde em nanoformulação de quitosana para biomodificação da dentina erodida em restaurações adesivas de dentes anteriores e posteriores, a literatura é ausente de estudos que analisaram o uso desta nanomorfulação.

Dentre os inibidores das metaloproteinases (MMPs), o chá verde, é um inibidor natural das metaloproteinases de matriz, bem como seus princípios ativos, apresentam potencial terapêutico, em conjunto com o epigallocatechin gallate (EGCG), um polifenol encontrado no chá verde, seu efeito quando aplicado sobre a dentina apresenta bons resultados na literatura, tais como efeito protetor contra erosão dentinária (Passos et al., 2018) e melhora na resistência adesiva quando restaurada com resina composta (de Macedo et al., 2019).

No presente estudo, as avaliações clínicas e fotográficas nos períodos baseline (7 dias) e 6 meses após a realização das restaurações não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos critérios analisados, tanto para os critérios clínicos (retenção, descoloração marginal, cárie secundária,

adaptação marginal e sensibilidade pós-operatória) e quanto para os critérios fotográficos (cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica). Isto pode ser justificado pela qualidade dos materiais restauradores, tais como adesivo autocondicionante universal (3M), resina composta filtek z 350 (3M) e o protocolo clínico criterioso realizado. A técnica de condicionamento ácido seletivo do esmalte, pode ser outro fator que colaborou para os resultados obtidos neste estudo, uma vez que as taxas de retenção observadas foram satisfatórias (Landuyt et al., 2006; Muñoz et al., 2013). Em contrapartida, Shinohara et al. (2020) não observaram diferença no desempenho de restaurações cervicais não cariosas, utilizando o condicionamento ácido seletivo em esmalte. A utilização de adesivos autocondicionantes melhora a resistência de união imediata e minimiza a degradação da interface dente/restauração a longo prazo (Amaral et al., 2009; Loguercio et al., 2011; Perdigão et al., 2012), independentemente da umidade dentinária, graças à presença do 10-MDP (10- metacriloiloxidecil di-hidrogênio fosfato) (Mena-Serrano et al., 2013). O uso do condicionamento seletivo do esmalte antes da aplicação do adesivo *self-etch*, utilizado no estudo atual, eleva a resistência de união do esmalte (Perdigão et al., 2012), isso pode ter colaborado para o baixo índice de perda das restaurações observado no presente estudo.

Duas restaurações pertencentes ao grupo controle obtiveram o escore Charlie para o critério retenção na avaliação de 12 meses, e necessitaram de substituição, uma delas foi realizada em um incisivo central superior (face palatina) e a outra em um pré-molar inferior. Como observado no estudo, no período de um ano de avaliação nenhuma falha relacionada à retenção foi observada no grupo experimental que recebeu a biomodificação da superfície dentinária erodida, Estudos in vitro (Passos et al., 2018; de Macedo et al., 2019) e in situ (Magalhaes et

al., 2009) têm destacado que o chá verde proporciona efeito promissor na proteção contra o processo de erosão dentinária (Passos et al., 2018), bem como melhora na resistência adesiva em procedimentos restauradores adesivos que envolvem dentina (Souza-Gabriel et al., 2020; de Macedo et al., 2019). Vailati et al. (2013) verificaram que restaurações em lesões de erosão apresentaram integridade marginal e ausência de infiltrações, após seis anos da realização das restaurações. Wilder et al. (2009) observaram que as taxas de retenção após 12 anos foram de 93% no grupo com condicionamento apenas em esmalte, e 84% no grupo condicionamento total, com uma taxa de retenção de 89%, as restaurações em ambos os grupos tiveram classificações de alfa de 88% ou mais em todas as categorias de avaliação clínica, exceto para coloração marginal.

No presente estudo, a aplicação do biomodificador a base nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) influenciou positivamente a qualidade e a longevidade das restaurações no período de 12 meses segundo os critérios avaliados (USPHS). Devido aos resultados promissores encontrados na literatura da aplicação destes biomodificadores, sobre a dentina erodida, mais estudos devem ser realizados, visando avaliações por períodos mais longos, no tratamento restaurador da erosão dental.

*C*onclusão

Considerando as limitações metodológicas deste estudo, conclui-se que:

A biomodificação da dentina erodida com nanoformulação de quitosana contendo chá verde (*Camellia sinensis*) no período de 12 meses, não afetou o desempenho das restaurações de resina composta, o que indica ser uma solução com potencial promissor.

*R*eferências

- Aguiar TR, Vidal CM, Phansalkar RS. Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. *J Dent Res*, v. 93, n. 4, p. 417-22, 2014.
- Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent*, v. 33, n. 3, p. 243-52, 2005.
- Amaral RC, Solari, HP. Collagen crosslinking for the treatment of keratoconous. *Rev Bras Oftalmol*, v. 68, n. 6, p. 86–91, 2009.
- Bedran-Russo AK, Pereira PN. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, v. 80, n. 1, p. 268-72, 2007.
- Beltrame APCA, Suchyta D, Abd Alraheem I, Mohammed A, Schoenfish M, Walter R, Almeida ICS, Souza LC, Miguez PA. Effect of Phosphorylated Chitosan on Dentin Erosion: An in vitro Study. *Caries Res*, v. 52, n.5, p.378-6, 2018.
- Canepa C, Imperiale JC, Berini CA; Lewicki M, Sosnik A, Biglione MM. Development of a Drug Delivery System Based on Chitosan Nanoparticles for Oral Administration of Interferon- α . *Biomacromolecules* v.18, n. 10, 3302–09, 2017.
- Catelan A, Guedes APA, Santos PH. Dental erosion and its implications on the oral health. *RFO UPF*, v.15, n.1, pp. 83-86, 2010.
- Cruz JB, Bonini G, Lenzi TL, Imparato JCP, Raggio DP, Bonding stability of adhesive systems to eroded dentin. *Dent Mat*, v. 29, n.1, p. 1-6, 2015.
- Cvar JF, Ryge G. Reprint of criteria for the clinical evaluation of dental restorative materials. 1971. *Clin Oral Investig*, v. 9, n.4, p. 215-32, 2005.
- Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E. Chitosan-A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications. *Prog Polym Sci*, v. 36, p. 981-1014, 2011.
- de Macedo FAA, Souza NO, Lemos MVS, De-Paula DM, Santiago SL, Feitosa VP. Dentin bonding and physicochemical properties of adhesives incorporated with epigallocatechin-3-gallate. *Odontology*, v. 107, n.1, p. 23-28, 2019.

- Elsaka SE, Elnaghy AM. Antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chitosan solutions and the outcomes on the bond strength of Real Sealer sealer to radicular dentin. *J Biomed Res*, v. 26, n.3, p. 193–99, 2012.
- Fakhri E, Eslami H, Maroufi P, Pakdel F, Taghizadeh S, Ganbarov K, Yousefi M, Tanomand A, Yousefi B, Mahmoudi S, Kafil HS. *Int J Biol Macromol*. v.1, n.162, p. 956-74, 2020.
- Fawzy AS, Nitisusanta LI, Iqbal K, Daood U, Beng, LT, Neo J. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. *J Mech Behav Biomed Mater*, v. 17, p. 278-89, 2013.
- Husain S, Al-Samadani KH, Najeeb S, Zafar MS, Khurshid Z, Zohaib S, Qasim SB. Chitosan Biomaterials for Current and Potential Dental Applications. *Materials (Basel)*. v.10, n.6, p. 602, 2017.
- Jackson JK, Zhao J, Wong W, Burt HM. The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J Mater Sci Mater Med*, v. 21, n.5, p. 1435-43, 2010.
- Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int*, v.47, n.4, p. 275-8, 2016.
- Karan K, Yao XC. Chemical profile of the dentin substrate in non-carious cervical lesions. *Dent Mater*, vol.25 n.10, p.1205-12, 2009.
- Karygianni L, Al-Ahmad A, Argyropoulou A, Hellwig E, Anderson AC, Skaltsounis AL. Natural Antimicrobials and Oral Microorganisms: A Systematic Review on Herbal Interventions for the Eradication of Multispecies Oral Biofilms. *Front Microbiol*, v.6, p.1529, 2016.
- Loguercio AD, Stanislawczuk R, Mena-Serrano A, Reis A. Effect of 3-year water storage on the performance of one-step self-etch adhesives applied actively on dentine. *J Dent*, v. 39, n.8, p. 578-87, 2011.

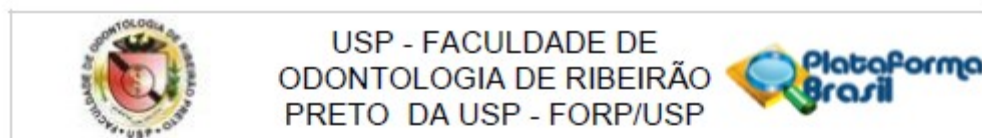
- Lussi A, Schlueter N, Rakmatullina E, Ganss C. Dental erosion—an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries. Res*, v.45 n.1, p.2–12, 2011.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MA. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. *J Dent*, v. 37, n.12, p.994-8, 2009.
- Majeti NV, Kumar R. A review of chitin and chitosan applications. *React Funct Polym*, v.46, p. 1-27, 2000.
- Mathews MS, Amaechi BT, Ramalingam K, Ccahuana-Vasquez RA, Chedjieu IP, Mackey AC, Karlinsey RL. In situ remineralisation of eroded enamel lesions by NaF rinses. *Arch Oral Biol*, v.57, n.5, p.525-30, 2012.
- Mena-Serrano A, Kose C, de Paula EA, Tay LY, Reis A, Loguercio AD, Perdigão J. A new universal simplified adhesive: 6-month clinical evaluation. *J Esthet Restor Dent*, v. 25, n.1, p. 55-69, 2013.
- Moazzez R, Austin R. Medical conditions and erosive tooth wear. *Br Dent J*. v.224, n.5, p.:326-32, 2018.
- Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, & Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent*, v.41, n.5, p.404-11, 2013.
- Muzzarelli C, Muzzarelli RA. Natural and artificial chitosan-inorganic composites. *J Inorg Biochem*, v.1, p. 89-94, 2002.
- Nishimura M, Ishiyama K, Watanabe A. Determination of the aflavins including methylated theaflavins in black tea leaves by solid-phase extraction and HPLC analysis. *J Agric Food Chem*, v. 55, n.18, p.7252-7, 2007.
- Passos VF, Melo MAS, Lima JPM, Marçal FF, Costa CAGA, Rodrigues LKA, Santiago SL. Active compounds and derivatives of *camellia sinensis* responding to erosive attacks on dentin. *Braz Oral Res*, v. 24 n.32, p.40, 2018.

- Perdigão J, Dutra-corrêa M, Saraceni CH, Ciaramicoli MT, Kiyon VH, Queiroz CS. Randomized clinical trial of four adhesion strategies: 18-month results. *Oper Dent*, v. 37, n.1, p. 3-11, 2012.
- Perdigão J, Sezinando A, Monteiro PC. Laboratory bonding ability of a multi- purpose dentin adhesive. *Am J Dent*, v. 25, n.3, p. 153-8, 2012.
- Pimenta JA, Zaparolli D, Pécora JD, Cruz-Filho AM. Chitosan: effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. *Braz. Dent. J*, v. 23, n.3, 2012.
- Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *Eur J Oral Sci*, v. 120, n.4, p. 353-62, 2012.
- Rabea EI, Badawy ME, Stevens CV, Smagghe G, Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromol*, v. 4, n.6, 2003.
- Santiago SL, Osorio R, Neri JR, Carvalho RM, Toledano M. Effect of the flavonoid epigallocatechin-3-gallate on resin-dentin bond strength. *J Adhes Dent*, v. 15, n.6, p. 535-40, 2013.
- Sasaki H, Matsumoto M, Tanaka T, Maeda M, Nakai M, Hamada S, Ooshima T. Antibacterial activity of polyphenol components in oolong tea extract against *Streptococcus mutans*. *Caries Res*, v. 38, n.1, p. 2-8, 2004.
- Scheffel DLS, Costa CAS, Hebling J, Soares DGS, Basso FG, Ribeiro APD. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dent Mater*, v. 30, n.7, p. 469-84, 2014.
- Shinohara MS, Carvalho PRM, Neves Marcon L, Gonçalves DFM, Ramos FSE, Fagundes TC. Randomized clinical trial of different adhesion strategies in noncarious cervical lesion restorations: 1-year follow-up. *Quintessence Int*, v.51, n.5, p.352-63, 2020.
- Shrestha A, Friedman S, Kishen A. Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. *J Dent Res*, v. 90, n.11, p.1346-51, 2011.

- Silva PV, Guedes DF, Pecora JD, Cruz-Filho AM. Time-dependent effects of chitosan on dentin structures. *Braz Dent J*, v. 23, n.4, p.357-61, 2012.
- Shpigelman A, Cohen Y, Livney YD. Thermally-induced b-lactoglobulin-EGCG nanovehicles: loading, stability, sensory and digestive-release study. *Food Hydrocoll*, v. 29, n.1, p. 57-67, 2012.
- Souza BM, Machado PF, Vecchia LR, Magalhães AC. Effect of chitosan solutions with or without fluoride on the protection against dentin erosion in vitro. *Eur J Oral Sci*, 2020, *in press*.
- Souza-Gabriel AE, Sousa-Neto MD, Scatolin RS, Corona SAM. Durability of resin on bleached dentin treated with antioxidant solutions or lasers. *J Mech Behav Biomed Mater*, v.104, 103647, 2020.
- Spin-Neto R, Coletti FL, Freitas RF, Pavone C, Campana-Filho SP, Marcantonio RAC. Chitosan-based biomaterials used in critical-size bone defects: radiographic study in rat's calvaria. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 41, n.5, 2012.
- Tavaria FK, Costa EM, Pina-Vaz I, Carvalho MF, Pintado MM. Chitosan as a dental biomaterial: state of the art. *Rev. Bras. Eng. Bioméd*, v. 29, n.1, 2013.
- ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci*, v. 104, n.2, p. 241-4, 1996.
- Thomas MS, Vivekananda Pai AR, Yadav A. Medication-related dental erosion: a review. *Compend Contin Educ Dent*, v.36, n.9, p.662-6, 2015.
- Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho RM, Tay FR, Pashley DH. Optimizing dentin bond durability: strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer. *Dent Mater*, v.29, n.10, p. 999-1011, 2013.
- Tjäderhane L, Buzalaf MAR, Carrilho M, Chaussain C. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: The era of 'dentin degradomics'. *Caries Research*, v. 49, p. 193-208, 2015.

- Ueno H, Murakami M, Okumura M, Kadosawa T, Uede T, Fujinaga T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. *Biomaterials*, v. 22, p. 1667-73, 2001.
- Ururahy MS, Curylofo-Zotti FA, Galo R, Nogueira LF, Ramos AP, Corona SA. Wettability and surface morphology of eroded dentin treated with chitosan. *Arch Oral Biol*, v. 75, p. 68-73, 2017.
- Vailati F, Gruetter L, Belser UC. Adhesively restored anterior maxillary dentitions affected by severe erosion: up to 6-year results of a prospective clinical study. *Eur J Esthet Dent*, v. 8, n.4, p.506-30, 2013.
- Van Landuyt KL, Peumans M, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeer B. Extension of a one-step self-etch adhesive into a multi-step adhesive. *Dental Materials*, v. 22, n.6, p. 533-44, 2006.
- Viana ÍEL, Lopes RM, Silva FRO, Lima NB, Aranha ACC, Feitosa S, Scaramucci T. Novel fluoride and stannous -functionalized β -tricalcium phosphate nanoparticles for the management of dental erosion. *J Dent*, v.92 p.103263, 2020.
- Warreth A, Abuhijleh E, Almaghribi MA, Mahwal G, Ashawish A. Tooth surface loss: A review of literature. *Saudi Dent J*, v.32 n.2, p.53-60, 2020.
- Wilder AD Jr, Swift EJ Jr, 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*, v. 140, n.5, p.526-35, 2009.
- Xu Z, Neoh KG, Lin CC, Kishen A. Biomimetic deposition of calcium phosphate minerals on the surface of partially demineralized dentine modified with phosphorylated chitosan. *J Biomed Mater ResB Appl Biomater*, v. 98, n.1, p. 150-9, 2012.
- Zimmerli B, De Munck J, Lussi A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Longterm bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. *Clin Oral Invest*, v. 16, p. 1451-61, 2012.

*A*_{nexos}

Anexo I – Documentação Comitê de ética em Pesquisa.

Continuação do Parecer: 3.897.546

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto de pesquisa aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto aprovado conforme deliberado na 234ª Reunião Ordinária do CEP/FORP de 02/03/2020

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|---------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1419002.pdf | 19/02/2020 11:50:24 | | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_Renato_Corrigido_2.pdf | 19/02/2020 11:48:47 | RENATO GONÇALVES DOS REIS | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO_MESTRADO_RENATO_US P.doc | 19/02/2020 11:48:21 | RENATO GONÇALVES DOS REIS | Aceito |
| Outros | infraestrutura_sup_clinicas.pdf | 21/11/2019 17:49:20 | RENATO GONÇALVES DOS REIS | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Infraestrutura_chefe_departamento.pdf | 21/11/2019 17:48:19 | RENATO GONÇALVES DOS REIS | Aceito |
| Outros | declaracao_nao_participacao.pdf | 21/10/2019 16:46:02 | RENATO GONÇALVES DOS REIS | Aceito |
| Folha de Rosto | Folha_de_rosto_2.pdf | 21/10/2019 14:37:26 | RENATO GONÇALVES DOS REIS | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Anexo II – Termos de consentimento livre e esclarecido.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Renato Gonçalves dos Reis e Silmara Aparecida Milori Corona convidamos você

RG: _____, a participar como voluntário da pesquisa “**Influência da quitosana na biomodificação de dentina erodida. Análise longitudinal clínica e fotográfica das restaurações**”.

Esta pesquisa vai avaliar se a quitosana, derivada de um composto natural (quitina), reforça a dentina erodida e permite uma restauração mais “forte” e duradoura.

Durante o período da pesquisa, o dentista fará a limpeza de todos os seus dentes, além do tratamento restaurador (obturação) e periodontal básico necessário. Na necessidade de outros procedimentos, você será orientado ou encaminhado para outra disciplina.

Em dois dentes que contêm lesões erosivas, faremos o tratamento restaurador (obturação) convencional em um deles, enquanto que no outro será aplicada quitosana 2,5% na superfície erodida antes da restauração (obturação) do dente. A restauração (obturação) será realizada com resina composta (material da mesma cor que o dente e comumente utilizado para restaurações). A quitosana não irá alterar a cor do dente nem da restauração de resina composta.

Depois de uma semana, e após 6 meses, você voltará para a faculdade para mostrar a restauração para os dentistas, e por meio de um exame clínico e fotográfico avaliaremos o tratamento. Durante este período, se necessário, você poderá entrar em contato com os dentistas para tirar dúvidas e, em caso de dor ou complicação nos dentes, atenderemos com o máximo de urgência possível.

Essa pesquisa envolve como riscos: sensibilidade dental, falha inerentes do procedimento restaurador, que serão minimizados com a repetição do procedimento restaurador caso haja necessidade bem como tratamento com agentes dessensibilizantes. A aplicação de quitosana 2,5% na forma de gel não torna o tratamento mais demorado, nem interrompe ou altera as etapas clínicas da terapia restauradora, além de ser indolor.

Como responsáveis por esta pesquisa, declaramos que acompanharemos e daremos assistência a você durante ou após a pesquisa. Caso queira desistir de participar da pesquisa, não terá nenhum problema ou prejuízo.

Declaramos também que haverá sigilo de seus dados confidenciais e de algo que lhe provoque qualquer tipo de constrangimento. Todos os seus dados serão anônimos.

Qualquer reclamação e/ou insatisfação durante a pesquisa poderá ser informada a Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa da FORP-USP pelo telefone (16) 3315-0493, desde que você se identifique, sendo que seu nome será mantido em segredo.

Será garantido ao participante o ressarcimento de eventuais despesas decorrentes de transporte e alimentação, estou ciente de que serei indenizado diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Li, compreendi, concordo em participar da referida pesquisa, por isso assino este documento.

Este documento foi impresso em duas vias, declaro que recebi uma via.

Atenciosamente,

Renato Gonçalves dos Reis
renato.odontocenter@gmail.com
Rua Olga Morello de Stefani, 290, Jaboicabal
Fone: (16) 3203-6870
RG: 63.744.815-7

Prof.ª Dr.ª Silmara Aparecida Milori Corona
silmaracorona@forp.usp.br
Rua Jacira, 252, Ribeirão Preto
Fone: (16) 3421-7117
RG: 17389809-9

Voluntário

RG:

Anexo III – Registro do estudo na plataforma (ReBEC).

Saúde
 Ministério da Saúde

REGISTRO BRASILEIRO DE Ensaios Clínicos

USUÁRIO: renatores SUBMISSÕES: 001 PENDÊNCIAS: 000 Perfil Painel SAIR

[PT](#) | [ES](#) | [EN](#)

[NOTÍCIAS](#) | [SOBRE](#) | [AJUDA](#) | [CONTATO](#)

[Buscar ensaios](#)

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / [PAINEL](#)

Submissões

[NOVA SUBMISSÃO](#)

| Data | Título | Situação |
|------------------|---|----------|
| 2019/12/10 00:02 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> encapsulada em nanopartículas de quitosana na dentina erodida.... | aprovado |

[MOSTRAR TODOS](#)

Observações

| Data | Submissão | Contexto | Texto |
|------------------|---|----------------------|--|
| 2019/12/10 11:25 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> ... | attachments | Prezado registrante, é necessário que seja anexada em... |
| 2020/06/05 09:02 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> ... | trial-identification | O título científico do estudo deve ser exatamente igual ao... |
| 2020/06/25 13:43 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> ... | study-type | No campo aberto "Desenho do estudo" favor seguir a sugestão... |
| 2020/06/05 09:02 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> ... | trial-identification | O título público deve estar de acordo com o título, mas não... |
| 2020/06/05 09:02 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> ... | trial-identification | Os acrônimos referem-se às siglas de fácil lembrança com as... |
| 2020/06/05 09:05 | Influência da biomodificação com <i>Camellia sinensis</i> ... | trial-identification | No campo "Identificadores secundários", favor seguir a... |

