

**LETÍCIA OBA SAKAE**

***Avaliação in situ* do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio  
e o propileno glicol alginato**

São Paulo

2018



**LETÍCIA OBA SAKAE**

**Avaliação *in situ* do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato**

**Versão Corrigida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Dentística) para obter o título de Mestre em Ciências.

Orientador: Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin

São Paulo

2018

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

Catálogo-na-Publicação  
Serviço de Documentação Odontológica  
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Sakae, Leticia Oba.

Avaliação *in situ* do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato / Leticia Oba Sakae ; orientador Taís Scaramucci Forlin. -- São Paulo, 2018.

99 p. : fig. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Erosão de dente. 2. Desgaste erosivo. 3. Fluoretos. 4. Propileno glicol alginato. 5. In situ. I. Forlin, Taís Scaramucci. II. Título.

Sakae LO. Avaliação *in situ* do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 25 / 03 /2019

### **Banca Examinadora**

Prof(a). Dr(a). Thiago Saads Carvalho

Instituição: University of Bern Julgamento: Aprovada

Prof(a). Dr(a). Alessandra Buhler Borges

Instituição: UNESP Julgamento: Aprovada

Prof(a). Dr(a). Cecília Pedroso Turssi

Instituição: SL Mandic Julgamento: Aprovada



Aos meus pais, Carlos e Sandra, por todo o amor, educação e incentivo que recebi a minha vida inteira. Obrigada por sempre estarem na minha torcida, por sempre me incentivarem a ir atrás dos meus sonhos, e por sempre aplaudirem as minhas conquistas. Saibam que sem vocês, nada eu seria. Vocês são a base de tudo. Eu amo vocês.

Aos meus avós, Mário e Mercedes, por serem os melhores avós que eu poderia ter. Vocês são responsáveis por cada conquista também. Não existem palavras que possam descrever o meu sentimento de gratidão pelo amor mais puro que eu recebi.

Ao meu Di, espero que de onde estiver, você esteja orgulhoso da sua neta. Tudo que eu mais queria era que você acompanhasse a minha trajetória de perto. Eu sinto muito a sua falta.

À minha orientadora, Profa. Dra. Taís Scaramucci,  
por sempre enxergar o potencial que eu nunca notei em mim. Muito obrigada por todos os ensinamentos, pela orientação para a realização desse trabalho, e por sempre confiar em mim. Você é muito mais que uma orientadora, é uma mulher brilhante, pela qual tenho muito respeito e admiração. É uma honra poder dizer que sou sua orientada. Agradeço pelos anos de carinho, atenção e amizade, por ser mãe, amiga e conselheira.



## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, representada pelo seu diretor Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha.

Ao Prof. Dr. Celso Luiz Caldeira, coordenador do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Dentística da FOUSP.

À todos os professores da FOUSP, principalmente aos do Departamento de Dentística, por todos os ensinamentos e pela minha formação profissional.

À Profa. Dra. Cecília Pedroso Turssi, da Faculdade São Leopoldo Mandic – Campinas, pela colaboração na execução da análise estatística do trabalho. Obrigada pelas sugestões de grande valia.

À Samira Helena João-Souza, pós-doutoranda da Universidade de Berna – Suíça, por ser a melhor parceira de trabalho no laboratório e a melhor co-orientadora. Esse trabalho não seria possível sem seu empenho e apoio. Obrigada por sempre me motivar a estudar mais, a adquirir uma visão mais crítica e, assim, melhorar. Eu tenho que dizer que definitivamente aprendi com a melhor. Além de uma grande professora, você se tornou uma grande amiga. Esse ano não foi nada fácil, mas tive a sorte de te ter sempre ao meu lado, durante os momentos em que mais precisei. Serei eternamente grata pela nossa amizade e parceria.

Ao Prof. Dr. Thiago Saads Carvalho, da Universidade de Berna – Suíça, por ter me recebido de braços abertos em seu laboratório, para que eu pudesse realizar um

estágio de curto período na Suíça. Muito obrigada por todos os ensinamentos e reflexões. Você é um pesquisador e professor admirável.

À Profa. Dra. Alessandra Buhler Borges, da Faculdade de Odontologia da UNESP – São José dos Campos, por sempre trazer contribuições extremamente ricas aos meus trabalhos, desde a minha Iniciação Científica.

À Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha, por ter me apresentado para a minha orientadora. Obrigada por me introduzir um assunto que me fez tomar gosto pela pesquisa. Agradeço por todo carinho, amizade e conselhos, desde a época da minha graduação.

À todo o grupo de pesquisa, composto pelos orientados da Profa. Taís (Sávio, Ítallo, Alana, Leo e Diana) e Profa. Ciça (Sandra, Sté, Raquel, Vini, Caio e Miriam), pela parceria, boa convivência e amizade. É sempre muito prazeroso poder trabalhar com vocês.

À todos os participantes do meu estudo, por terem sido peças fundamentais para a execução desse trabalho. Eu sei que participar de um estudo *in situ* não é para os fracos, por isso, muito obrigada pela paciência e colaboração em todas as etapas.

À Yael, por ter sido o melhor presente da graduação. Obrigada por todos esses anos de amizade e companheirismo, e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos importantes. Eu sei que não sou uma pessoa fácil, então obrigada por resistir até hoje.

À Sandra, por ter sido o melhor presente da pós-graduação. Minha única lamentação é não ter me aproximado de você antes. Obrigada por ser minha

parceira de todas as horas e por alegrar os meus dias. Sua amizade vale ouro! Amo você!

Ao Ítallo, por ser meu fiel escudeiro. Obrigada por sempre me fazer olhar por uma outra perspectiva, e me preocupar menos. Você mora no meu coração!

Às minhas amigas, Stephanie e Karol, obrigada pela nossa amizade, por sempre se fazerem presentes, e por sempre cuidarem de mim. Agradeço demais pelos momentos inesquecíveis que vivi com vocês na Europa. Vocês são amigas que levarei para vida toda!

À todos os meus amigos da pós-graduação, Amanda, Bia, Carlinhos, Carol (Chile), Carol (Endo), Camilinha, Claudia, Érika, Fernanda, Giovanni, Hermano, Juan, Juliana Couto, Juliana Rodrigues, Karin, Laís, Lívia, Lucas, Luiza, Olivia e Samuel, por toda a parceria. Obrigada pelas conversas, pelos momentos de descontração, e por todas as risadas. Isso só tornou a minha caminhada no mestrado mais leve!

Às minhas amigas da graduação, Juliana, Marília, Monique, Roberta e Yael, por todo o apoio, compreensão e incentivo, ao longo desses sete anos de amizade. Espero sempre ter vocês por perto!

Ao Sávio, por toda a paciência nos seus ensinamentos e conselhos. Obrigada por sempre me lembrar a não sofrer por antecipação e a não surtar, em hipótese alguma! Sou muito grata e tenho um carinho enorme por você!

À minha aluna de Iniciação Científica, Ana Renzo, por me dar a oportunidade de ensinar. Agradeço muito pelo carinho e sensibilidade que você sempre tem comigo. Você é uma querida!

Aos funcionários do Departamento de Dentística, por toda a ajuda. Especialmente à Silvana, por ter limpo e organizado nosso laboratório.

À bibliotecária Glauci, pelo auxílio na formatação e correção desta dissertação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo 2017/09408-3) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Ao Centro de Tecnologia das Radiações do IPEN, por realizar a esterilização das minhas amostras.

**Muito obrigada a todos que participaram, direta ou indiretamente, dessa minha jornada!**

"Nunca tenha certeza de nada, porque a sabedoria começa com a dúvida".  
Sigmund Freud



## RESUMO

Sakae LO. Avaliação *in situ* do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio (225 ppm F<sup>-</sup>), fluoreto de sódio + cloreto de estanho (F+Sn: 225 ppm F<sup>-</sup> + 800 ppm Sn<sup>2+</sup>), fluoreto de sódio + propileno glicol alginato (F+PGA: 225 ppm F<sup>-</sup> +0,1% PGA) e da água destilada (controle negativo), utilizando um modelo *in situ*, de boca dividida, único cego, cruzado, de quatro fases. Doze voluntários participaram do estudo após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido. Em cada fase, os voluntários usaram dispositivos mandibulares contendo quatro espécimes de esmalte, os quais foram submetidos a um ciclo de erosão-abrasão ou erosão (boca dividida), com duração de cinco dias. A ciclagem erosão-abrasão consistiu em 5 min de imersão extra-oral em ácido cítrico a 1% (pH=2,6), seguido de 120 min de re-deposição mineral *in situ*. Esse procedimento foi repetido 4 vezes ao dia. O tratamento com as soluções teste foi realizado extra-oralmente, 2x/dia, por 2 min, 60 min após o primeiro e o último desafios erosivos. Antes do tratamento, a escovação era realizada, com escova elétrica e uma suspensão de dentífrico (1450 ppm F) e saliva, por 5 s, totalizando 2 min de exposição total a suspensão. Para a ciclagem erosão, o mesmo protocolo foi seguido, porém, somente houve exposição dos espécimes à suspensão de dentífrico por 2 min, sem escovação. Ao final, a perda de superfície (PS) dos espécimes (em µm) foi avaliada por perfilometria ótica, e os dados submetidos aos testes ANOVA a 2 fatores de medidas repetidas e Fisher ( $\alpha=0,05$ ). Para ambas condições (erosão e erosão-abrasão), o F+Sn apresentou significativamente a menor PS, seguido pelo F+PGA, F e água destilada, que não se diferiram entre si. Os grupos submetidos a erosão-abrasão apresentaram maior PS dos que os submetidos a erosão somente. Em conclusão, a única solução que apresentou um efeito protetor contra o desgaste erosivo foi a de fluoreto de sódio + cloreto de estanho. O PGA não foi capaz de melhorar o efeito protetor do F *in situ*.



Palavras-chave: Erosão dental. Desgaste erosivo. Fluoretos. Propileno glicol alginato. In situ.



## ABSTRACT

Sakae LO. *In situ* evaluation of the anti-erosive effect of the association of sodium fluoride with propylene glycol alginate [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida.

The aim of this study was to evaluate the anti-erosive effect of solutions containing sodium fluoride (F: 225 ppm F<sup>-</sup>), sodium fluoride + stannous chloride (F+Sn: 225 ppm F<sup>-</sup> + 800 ppm Sn<sup>2+</sup>), sodium fluoride + propylene glycol alginate (F+PGA: 225 ppm F<sup>-</sup> + 0,1% PGA), and distilled water (negative control), using a four-phase, split mouth, single blind, crossover *in situ* trial. Twelve subjects participated in the study after signing a written informed consent. In each study phase, the subjects used removable mandible devices containing four enamel specimens, which were submitted to an erosion-abrasion or erosion cycling model (split mouth) of five days. The erosion-abrasion cycling consisted of 5 min extra-oral immersion in 1% citric acid (pH=2.6), followed by 120 min of mineral re-deposition *in situ*. This procedure was repeated 4x/day. Treatment with test solutions was performed 2x/day, after the first and the last erosive challenges. Before treatment, toothbrushing was performed with an electric toothbrush and a toothpaste slurry (1450 ppm F) for 5 s, in a total of 2 min exposure to the slurry. For the groups subjected to erosion only, the same cycling described before was performed, however, the specimens were only exposed to the toothpaste slurry for 2 min, without brushing. At the end, enamel surface loss (SL, in µm) was evaluated with optical profilometry. Data were analyzed with 2-way ANOVA repeated measures and Fisher tests (α=0,05). For both conditions (erosion and erosion-abrasion), F+Sn presented significantly the lowest SL, followed by F+PGA, F, and distilled water, which did not differ from each other. Groups submitted to erosion-abrasion presented a higher SL in comparison to erosion only. In conclusion, the only solution that presented a protective effect against erosive wear was fluoride + stannous chloride. PGA was not capable of improving the protective effect of F *in situ*.

Keywords: Dental erosion. Erosive tooth wear. Fluoride. Propylene glycol alginate. In situ.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 - Secção dos espécimes .....	56
Figura 4.2 - Planificação e polimento dos espécimes .....	56
Figura 4.3 - Espécimes com as fitas de UPVC fixados nos nichos dos dispositivos intra-orais .....	58
Figura 4.4 – Fluxograma dos procedimentos experimentais .....	61
Figura 4.5 - Perfilometro ótico realizando o escaneamento da superfície do esmalte e uma imagem representativa da superfície escaneada com os parâmetros descritos.....	62



## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Soluções experimentais, reagentes, suas concentrações e valores de pH.....	51
Tabela 4.2- Valores do fluxo salivar (FS) não-estimulado e estimulado dos participantes.....	54
Tabela 5.1- Médias (DP) da PS (em $\mu\text{m}$ ) de acordo com os tratamentos e tipos de desafio .....	63



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AmF	Fluoreto de amina
BEWE	Basic Erosive Wear
CaF <sub>2</sub>	Fluoreto de cálcio
Ca(SnF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Fluoreto de cálcio estanhoso
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CMC	Carboximetilcelulose
CPP-ACP	Fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo
DP	Desvio padrão
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
FS	Fluxo salivar
IPEN	Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares
LPP	Polímero de fosfato de cadeia linear
Ltd	Limitada
MFP	Monofluorofosfato de sódio
NaF	Fluoreto de sódio
PA	Película adquirida
PGA	Propileno glicol alginato
PS	Perda de superfície
SnCl <sub>2</sub>	Cloreto de estanho
SnF <sub>2</sub>	Fluoreto de estanho
Sn <sub>3</sub> F <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Fluorofosfatado estanhoso
SnOHPO <sub>4</sub>	Hidroxifosfato estanhoso
TiF <sub>4</sub>	Tetrafluoreto de titânio
TiO <sub>2</sub>	Óxido de titânio
UPVC	Cloreto de polivinil não plastificado



## LISTA DE SÍMBOLOS

F <sup>-</sup>	flúor
pH	potencial hidrogênico
Sn <sup>2+</sup>	estanho
%	porcentagem
ml/min	milímetro/minuto
nm	nanômetro
H <sup>+</sup>	hidrogênio
h	hora
min	minuto
Ca <sup>2+</sup>	cálcio
ppm	partículas por milhão
µm	micrometro
°C	grau(s) Celsius
mM	mil mol
=	igual
g/l	grama/litro
N/A	nada
>	maior que
®	marca registrada
mm	milímetro
kGy	quilo Gray
ml	mililitro
N	Newton
s	segundo
<	menor que



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	27
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	31
3	PROPOSIÇÃO .....	47
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
5	RESULTADOS .....	63
6	DISCUSSÃO .....	65
7	CONCLUSÕES .....	69
	REFERÊNCIAS .....	71
	ANEXOS.....	87



## 1 INTRODUÇÃO

O desgaste dental erosivo tem se tornado um problema de crescente interesse para clínicos e pesquisadores. Trata-se de um processo multifatorial que, ao longo do tempo, pode prejudicar o estado de saúde da dentição (1). A erosão dental diz respeito à dissolução química dos tecidos duros dentários por ácidos ou por quelação, sem o envolvimento bacteriano (2). Quando os ácidos com potencial erosivo entram em contato com os dentes, ocorre uma desmineralização, resultando numa camada superficial mais fragilizada, com dureza reduzida. Com a exposição prolongada e repetida aos ácidos, há a perda dos tecidos duros dos dentes, camada a camada (3). Sabe-se também que essa camada de conteúdo mineral reduzido por ácidos é mais susceptível a ser removida por insultos mecânicos, como por exemplo, pela escovação com dentifrícios ou pelo contato dos dentes, num processo químico-mecânico. Considerando que *in vivo* os episódios de ataque por ácidos erosivos são, em sua maioria, de curta duração, acredita-se que o maior responsável pelo desgaste dental seja justamente a combinação da erosão com os insultos mecânicos (4).

Os ácidos responsáveis pela erosão podem ter origem intrínseca ou extrínseca. O ácido clorídrico estomacal é o único representante de ácido intrínseco, o qual pode atingir a cavidade bucal com frequência nos casos de distúrbios gástricos, como refluxo, ou em condições que causam vômitos recorrentes, como bulimia (5). Os ácidos de origem extrínseca podem ser encontrados nos alimentos e bebidas ácidas, mas também existem relatos de erosão por medicamentos e gases presentes em ambientes, como em algumas indústrias químicas (6).

Quando nos estágios iniciais, o diagnóstico clínico do desgaste erosivo é muito difícil de ser realizado. Um dos primeiros sinais dessa condição é o aparecimento de concavidades rasas nas superfícies lisas dos dentes, coronalmente à junção esmalte-cimento. A lesão se inicia com a superfície adquirindo uma textura macia, com brilho acetinado. As áreas convexas dos dentes tornam-se planas e, num segundo momento, há o aparecimento de concavidades com a largura maior do que a profundidade. Nas superfícies oclusais, as características iniciais do processo são semelhantes. No entanto, com a progressão, ocorre o arredondamento das cúspides, com as restaurações aparentando estar elevadas em

relação ao plano do dente. Nos casos mais severos, a morfologia oclusal desaparece, desencadeando a perda da dimensão vertical da dentição (7,8).

Dentre os fatores que podem modular a progressão da erosão, a saliva é um dos mais importantes (9). Ela é responsável pela diluição, tamponamento e limpeza dos ácidos erosivos no ambiente bucal. Além disso, ela também contém íons cálcio, fosfato e flúor, que possuem uma importante função no processo de desmineralização e remineralização (10). Por fim, a saliva exerce um papel na formação da película adquirida, um filme orgânico composto por proteínas, peptídeos, lipídios e outras macromoléculas (11), que atua como uma membrana semipermeável, evitando o direto contato dos ácidos com a superfície dental (12).

Dentre as estratégias sugeridas para a prevenção da erosão, a aplicação tópica de produtos fluoretados tem sido uma das mais preconizadas (13–16). Compostos fluoretados monovalentes, como o fluoreto de sódio (NaF) e o fluoreto de amina (AmF), protegem o substrato dental contra a erosão por meio da formação de precipitados semelhantes ao fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ ). Acredita-se que esses precipitados atuam formando uma camada protetora a ser dissolvida durante um desafio erosivo, a qual evitaria, temporariamente, a desmineralização do tecido dental subjacente. Adicionalmente, esses precipitados também se solubilizariam durante o ataque ácido, liberando  $\text{F}^-$  para o meio, atuando também no processo de remineralização (17–19). Sabe-se que a deposição de minerais semelhantes ao  $\text{CaF}_2$  é otimizada com o uso de produtos fluoretados mais concentrados, com menor pH, e que são aplicados por mais tempo e com maior frequência (20–22). No entanto, foi observado que, mesmo nestas condições, o uso de fluoreto em concentrações semelhantes às presentes nos dentifrícios, resultou em somente 40% da superfície do esmalte coberta pelos precipitados (23). Portanto, pode-se esperar uma proteção limitada com a aplicação desses compostos (22).

Compostos fluoretados polivalentes de cátions metálicos, como o fluoreto de estanho ( $\text{SnF}_2$ ) ou o fluoreto combinado com algum sal de estanho, como o  $\text{SnCl}_2$ , também vem sendo testados contra o desgaste erosivo, e os resultados até o presente momento são promissores (18). Além da formação de material semelhante ao  $\text{CaF}_2$ , o estanho pode interagir com a superfície do dente e formar uma camada rica em Sn, que mostrou ser mais ácido resistente (24,25). Adicionalmente, o estanho pode se incorporar na estrutura dental, aumentando sua resistência contra a desmineralização (19,26). No entanto, deve ser ponderado que, mesmo os produtos

contendo a associação de flúor com estanho devem ser aplicados frequentemente, pois sua proteção pode ter curta duração, considerando o ambiente altamente erosivo no qual eles são comumente expostos (18).

Além dos fluoretos, estudos vem demonstrando que alguns polímeros formadores de filme também podem ser utilizados para o controle do desgaste erosivo (25,27,28). Esses polímeros possuem afinidade com as superfícies dentais, onde podem ali se adsorver e formar uma camada protetora contra os ácidos (29). Eles já foram testados como aditivos de bebidas ou soluções ácidas (30–33), ou como ingredientes ativos de dentifrícios e enxaguatórios bucais (25,28,34–37), com resultados positivos.

Adicionalmente, há evidências mostrando que alguns desses polímeros também podem interagir positivamente com fluoretos, aumentando seus efeitos protetores (28,35,36,38). Uma investigação conduzida por nosso grupo de pesquisa mostrou que uma solução contendo a combinação de NaF, SnCl<sub>2</sub> e um polímero de fosfato de cadeia linear (LPP) foi capaz de reduzir a perda de esmalte em 68%, diante da simulação de uma condição erosiva agressiva. Essa combinação exibiu proteção superior a uma solução contendo somente NaF e SnCl<sub>2</sub> (25). Outra investigação mostrou que o polímero carbopol foi capaz de melhorar efeito protetor do NaF contra a erosão inicial. Esse polímero, associado ou não ao NaF, também conseguiu reduzir a magnitude do desgaste erosivo em esmalte após inúmeros ataques ácidos (28).

Mais recentemente, nosso grupo de pesquisa conduziu um estudo testando diversos polímeros formadores de filme, bem como suas associações com o NaF e com o SnCl<sub>2</sub>. Foi observado que o propileno glicol alginato (PGA), na concentração de 0,1%, foi o único polímero capaz de melhorar o efeito protetor do NaF contra a erosão em esmalte, reduzindo a erosão em 62%. Nesse trabalho, não houve melhora significativa na perda de esmalte com associação entre o PGA e o NaF+SnCl<sub>2</sub> (39). O PGA é um polímero muito utilizado em alimentos. Trata-se de um éster de ácido algínico, possuindo grupos carboxílicos (carga negativa), que são esterificados com propileno glicol, e que tem habilidade de interagir com o cálcio presente na superfície dos dentes, formando uma camada polimérica protetora, que pode ser um reservatório de eletrólitos. Além do estudo conduzido por nosso grupo, uma outra investigação constatou que a adição do PGA à uma solução de ácido cítrico foi capaz de reduzir o efeito erosivo dessa solução em esmalte (31).

Em vista dos resultados promissores obtidos com o uso do PGA, ele destaca-se como uma alternativa interessante para ser testada, em combinação com o NaF, como um potencial aditivo de enxaguatório bucal contra a erosão dental, porém em uma situação que simule a condição clínica com mais fidelidade, como ocorre nos estudos *in situ*. A presença da película salivar adquirida é de extrema importância quando da avaliação de agentes formadores de filme, visto a possibilidade de competição desses agentes com as proteínas da película salivar por sítios de ligação na superfície do esmalte (27). A introdução da escovação no modelo também é de relevância, já que a ação abrasiva da escovação com dentífrício pode interferir no efeito anti-erosivo desses agentes, podendo acelerar a sua remoção da superfície dental. Dessa forma, os resultados dessa investigação podem abrir novas perspectivas para a formulação de produtos de higiene oral específicos para a prevenção/tratamento do desgaste dental erosivo.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 DESGASTE DENTAL EROSIVO

O desgaste dental por erosão tem se tornado um assunto de grande interesse por clínicos e pesquisadores nas últimas décadas. Devido a maior conscientização da população sobre a importância da higiene oral, principalmente em relação à prevenção da doença cárie, além do maior entendimento dessa doença, observou-se um aumento da longevidade dos dentes na cavidade bucal dos pacientes. Tal fato somado às mudanças de hábitos pela população, com o aumento na ingestão de alimentos e bebidas ácidas, fez com que o desgaste dental erosivo se tornasse uma condição comum, requisitando, assim, uma maior habilidade dos clínicos para atuar na sua prevenção, controle e reabilitação dos danos causados (1).

A erosão dental é o processo no qual ocorre a dissolução química dos tecidos duros dentais por ácidos de origem não bacteriana (2,40,41). Diferentemente da cárie, a erosão dental é um fenômeno que ocorre na superfície dos dentes, e em uma subcamada, próxima à superfície (1). Quando os ácidos erosivos entram em contato com a superfície dos dentes, eles devem se difundir pela película adquirida para dar início ao processo de desmineralização, promovendo a dissolução dos cristais de hidroxiapatita (42,43), e levando a um amolecimento da superfície do esmalte, e aumento de sua rugosidade (44). Essa camada mais fragilizada torna-se então mais susceptível a ser removida pela ação de forças mecânicas, como da escovação. Tal processo é melhor definido como desgaste erosivo, onde há a associação de fenômenos químicos e mecânico, e é a condição mais encontrada na prática clínica (1,45).

O desgaste erosivo é um processo multifatorial, em que há a interação de fatores relacionados ao paciente e fatores relacionados à nutrição com as superfícies dos dentes. Essa interação pode tanto promover a perda de tecido dental, como também atuar em sua proteção, dependendo do equilíbrio desses fatores (1). Os fatores relacionados ao paciente incluem características biológicas (saliva, anatomia dental e dos tecidos moles) e hábitos comportamentais (hábitos alimentares, higiene oral, uso de medicamentos, hábitos parafuncionais, refluxo e vômitos), já os fatores nutricionais levam em consideração as características dos

alimentos e bebidas ácidas, tais como o pH, capacidade tampão, tipo do ácido e a presença de íons cálcio, fosfato e flúor (6).

Dentre os fatores biológicos relacionados ao paciente, a saliva é considerada o fator mais importante. É ela quem exerce o papel de diluir, limpar, neutralizar e tamponar os ácidos erosivos; de manter-se em um estado supersaturado em relação ao dente, devido a presença de íons cálcio e fosfato; de formar a película adquirida, que atua protegendo a superfície dos dentes contra os ácidos; além de ter um papel na remineralização pela presença de íons cálcio, fosfato e flúor (6,10).

Em relação aos fatores comportamentais, o consumo de bebidas e alimentos ácidos deve ser destacado, com ênfase na frequência de ingestão, uma vez que, quanto maior a frequência, maior o tempo de contato direto de ácidos da dieta com as superfícies dentais. A maneira de ingestão também é importante, já que se o indivíduo possui o hábito de bochechar a bebida antes de engoli-la, ou de reter a bebida por um tempo prolongado na boca, também há o aumento do tempo de contato do ácido com o dente (6). Uma outra questão importante são as condições que resultam na presença do ácido clorídrico estomacal na cavidade bucal, como ocorre em indivíduos que sofrem de problemas gastroesofágicos, como o refluxo, e de distúrbios alimentares que levam a vômitos recorrentes. Nesses casos, o ácido estomacal é mais forte do que os ácidos da dieta, e podem causar perdas significativas da estrutura dental (46).

Já em relação aos fatores nutricionais, apesar da erosão dental ser ocasionada por ácidos, diferentemente da cárie, não existe um pH crítico fixo para provocar a erosão, pois esta também depende da concentração de minerais presentes nos alimentos e soluções ácidas (47). Scaramucci et al. (48) mostraram que quando o cálcio é adicionado a um suco de laranja, seu potencial erosivo é diminuído, e que essa redução é dependente da concentração de cálcio. Isso acontece porque a dissolução da superfície dental não acontecerá de maneira significativa quando houver exposição a uma solução supersaturada em relação aos minerais do dente, mesmo se o pH for baixo. De forma geral, a concentração de cálcio, fosfato e flúor, combinado com o pH, vão determinar o grau de saturação dos minerais presentes no dente, permitindo se determinar o potencial erosivo de uma solução ácida. Outro fator importante é a capacidade tampão da solução ácida, já que quanto maior a capacidade tampão, maior o tempo para a saliva neutralizar o ácido. Além disso, o processo de dissolução será intensificado, uma vez que, será

exigida uma maior liberação de íons da superfície dental para tornar o ácido inativo (47).

Clinicamente, o desgaste erosivo inicia-se com uma diminuição mineral da superfície dos dentes. As áreas convexas dos dentes se tornam planas, com a possibilidade de formação de concavidades rasas. Geralmente, as lesões iniciais estão localizadas acima da junção esmalte-cimento, preservando o esmalte intacto junto à margem gengival. Com a sua progressão, as cúspides dos dentes posteriores se tornam arredondadas com presença de ranhuras, que também podem aparecer nas bordas incisais dos dentes anteriores; e as restaurações, quando presentes, apresentam bordas elevadas em relação às superfícies dentárias adjacentes. Nos casos mais severos, a morfologia da face oclusal pode ser completamente perdida (49).

Como já é sabido, o desgaste erosivo é um fenômeno que ocorre na superfície do dente, em regiões passíveis de visualização pelo clínico. Em vista disso, o diagnóstico é mais visual do que manual (49). Entretanto, é difícil para o clínico a realização do diagnóstico, principalmente quando se tratam de lesões iniciais, uma vez que os sinais clínicos se apresentam através de alterações sutis na estrutura dental, as quais podem, muitas vezes, parecer irrelevantes para um profissional desatento. Assim, é importante que os clínicos sejam treinados para conseguirem diagnosticar o desgaste erosivo em sua fase inicial, de maneira que medidas preventivas sejam implementadas precocemente, assim reduzindo a sua progressão e, conseqüentemente, os prejuízos ao paciente (50).

Como uma tentativa de padronizar e facilitar o diagnóstico do desgaste erosivo, foram propostos índices que podem levar em consideração tanto critérios morfológicos, como quantitativos. Um índice mais recente é o Basic Erosive Wear Examination (BEWE), em português “Diagnóstico Básico do Desgaste Erosivo”. O BEWE avalia o tamanho de uma lesão através da porcentagem da superfície de dente afetada. Todos os dentes são avaliados, em todas as superfícies, com exceção dos terceiros molares. A dentição é dividida em sextantes, sendo somente registrado o sextante com a maior pontuação, que está relacionado a um desgaste mais severo. A soma da pontuação dos sextantes é usada para auxiliar os clínicos na tomada de decisão do tratamento (49,51). Olley et al. (52) validaram o BEWE

como uma ferramenta de diagnóstico para o desgaste erosivo, mostrando que a pontuação acumulada dos sextantes é uma representação do desgaste de todas as faces dos dentes da cavidade bucal do paciente. Entretanto, com este método não é possível de se distinguir uma perda de esmalte de uma exposição dentinária (53).

Evidências mostram que a presença do desgaste erosivo tem crescido. A maioria dos estudos levam em consideração crianças e adolescentes, devido a maior facilidade na realização do recrutamento, quando comparado com os adultos (54). Uma revisão sistemática recente, que considerou 22 artigos, estimou uma prevalência de desgaste erosivo em dentes permanentes de crianças e adolescentes em 30,4%, sendo esta considerada alta (55). Um estudo conduzido na Alemanha mostrou uma prevalência de 32% em crianças de 2 a 7 anos de idade, sendo maior nas crianças mais velhas (56). Um outro estudo também mostrou uma alta prevalência do desgaste erosivo em jovens adultos na Europa. Trinta por cento dessa população apresentou pelo menos um dente com desgaste erosivo avançado (57).

Geralmente, o desgaste erosivo tem uma tendência de acometer mais indivíduos do sexo masculino. A face oclusal dos primeiros molares inferiores é reportada como a mais afetada, seguida pela face palatina dos dentes anteriores superiores. Ademais, existe uma tendência em haver mais lesões de erosão conforme o envelhecimento da população, como também em ocorrer a progressão dessas lesões com o tempo, com maior exposição dentinária. Com isso, é essencial que medidas preventivas adequadas sejam implementadas, principalmente nos grupos de risco (54).

## 2.2 A AÇÃO DA SALIVA NA EROSÃO

A saliva é considerada o principal fator biológico modulador da erosão dental. A saliva tem a habilidade de atuar na diluição, limpeza, neutralização e tamponamento dos ácidos; de formar uma membrana protetora nas superfícies dos

dentes (película salivar adquirida); além de reduzir a desmineralização e favorecer a remineralização, por fornecer íons de cálcio, fosfato e flúor (10).

A ação protetora da saliva inicia antes mesmo do desafio erosivo, como uma resposta a estímulos extra-orais, como o odor (58,59) e a visão (60), por meio do aumento do fluxo salivar. Com isso, torna-se elevada a concentração de íons carbonato, cálcio, fosfato e flúor, que tem o papel de realçar a capacidade tampão da saliva e de manter a integridade do dente (61,62).

A taxa de fluxo salivar, por sua vez, é considerada o fator mais importante para determinar o efeito protetor da saliva, pois praticamente todos os outros parâmetros salivares são dependentes disso (63). Em média, a taxa de fluxo salivar não estimulado é 0,5 ml/min (64), e quando essa taxa é inferior a 0,1 ml/min, podemos considerar que o indivíduo sofre de hipossalivação (65). Essa hipofunção da glândula salivar pode ser causada por efeitos colaterais de drogas, síndrome de Sjogren, radioterapia de cabeça e pescoço, dietas específicas e certos padrões de exercício (66), que reduzem a capacidade da saliva de neutralizar e tamponar os ácidos, o que pode favorecer o desenvolvimento da erosão (67). Dessa forma, para pacientes que sofrem dessa condição, pode ser recomendado o uso de uma goma de mascar logo após um desafio erosivo, para que haja a estimulação do fluxo salivar (68). Além disso, pode ser indicado o uso de drogas colinérgicas, como a pilocarpina, para a estimulação do fluxo salivar de maneira sistêmica (17). Outra medida que pode ser implementada é o aumento da disponibilidade de cálcio e flúor no meio bucal, por meio de produtos de higiene oral com altas concentrações desses ingredientes ativos (10,69).

Dentre as funções da saliva, tem-se a formação da película adquirida (PA), uma membrana fina orgânica e livre de bactérias (70). Por meio da adsorção seletiva de proteínas salivares na superfície do dente, além de lipídeos e glicoproteínas, ocorre a fase inicial da formação da PA (71), em questão de segundos da exposição do esmalte a saliva (72). Então, precursores proteicos, como a estaterina, histatina, e proteínas ricas em prolina ácida, por conta dos seus grupos fosfatos interagindo com o cálcio e fosfato dos cristais de esmalte, vão se aderir à superfície, formando uma camada proteica de 10-20 nm de espessura (73). Sugere-se que essas proteínas ligadoras de cálcio consigam manter altas concentrações de cálcio dentro

da película e próxima dos cristais de apatita, e assim, reduzir a desmineralização (12). Na sequência, os agregados de proteínas serão os responsáveis pelo desenvolvimento da PA em espessura (74).

A PA age como uma barreira natural seletiva, reduzindo o contato direto do ácido com as superfícies dos dentes (12). Como resultado, depois de um desafio ácido, há uma diminuição na taxa de difusão de íons cálcio e fosfato do esmalte, fornecendo assim uma proteção contra a desmineralização (72). Além disso, as proteínas presentes na PA atuam como um tampão, através de ligações com os íons  $H^+$  (11,73). Entretanto, a PA não tem a capacidade de completamente inibir as alterações no esmalte, como perda de mineral, diminuição da dureza e aumento da rugosidade, decorrentes da exposição ao ácido (73,75,76). Essas alterações ocorrem em decorrência da difusão dos íons  $H^+$  do ácido através da PA, ou pela dissolução e remoção da PA pelos ácidos (12).

Acreditava-se que a proteção da PA contra a erosão dependia da sua espessura e tempo de maturação (77). Amaechi et al. (75) mostraram que uma PA mais espessa tem um efeito protetor mais elevado. Quanto ao tempo de maturação, estudos tem demonstrado que, depois de 1h, a PA atinge a máxima proteção contra a desmineralização, sem haver aumento subsequente dessa proteção com tempos mais longos de maturação (74,77). Em um estudo *in situ* de Hannig et al. (76) não houveram diferenças significativas na proteção de PAs formadas depois de 2h e até 24h. Mais recentemente, Hannig et al. (78) mostraram que uma PA formada *in situ* por um curto período de tempo (3min) também tem a capacidade de oferecer uma certa proteção contra a desmineralização em esmalte. Este achado corrobora com a hipótese de que a camada basal da PA é a principal responsável para a proteção do esmalte, e não seu tempo de maturação, composição e conformação das proteínas.

## 2.3 ESTRATÉGIAS PREVENTIVAS

As estratégias preventivas do desgaste erosivo devem levar em consideração os fatores biológicos, químicos e comportamentais envolvidos em sua etiologia, e

devem ser iniciadas o mais cedo possível para reduzir os desafios erosivos e aumentar a ação dos fatores protetores, auxiliando ao retorno do equilíbrio da cavidade bucal (1). Estas estratégias podem ser divididas em medidas preventivas gerais, que vão levar em conta os fatores comportamentais relacionados ao paciente; e em medidas preventivas específicas, que estão relacionadas aos tratamentos disponíveis.

Considerando que o desgaste erosivo é uma condição multifatorial, as estratégias preventivas não devem ser iguais para todos os pacientes. É dever do profissional identificar os fatores de risco em seus pacientes, estabelecendo assim, um programa preventivo individual e personalizado para o seu paciente (79).

Como mencionado anteriormente, o desgaste erosivo é uma condição comum em pacientes que consomem frequentemente bebidas e alimentos ácidos, estando essa frequência diretamente relacionada ao aumento do risco de erosão (6,80,81). Uma das medidas preventivas gerais mais importantes a serem implementadas é a diminuição da exposição das superfícies dentais às substâncias ácidas, tanto na frequência, como na duração do contato com os ácidos. Uma vez que a frequência está relacionada ao número de desafios ácidos que os dentes estão sendo submetidos e, conseqüentemente, ao número de vezes que o potencial diluidor, neutralizador e tamponador da saliva estão sendo solicitados, é importante orientar o paciente a evitar consumir alimentos e bebidas ácidas entre as refeições (8,82). O paciente deve ser orientado também em relação à maneira como essas substâncias ácidas estão sendo ingeridas, já que hábitos como bochechar ou segurar a bebida ácida na boca por um período de tempo considerável, além de aumentar o tempo de contato dos ácidos com a superfície dental, levam a quedas prolongadas nos valores de pH nas superfícies dos dentes (83).

As medidas preventivas abordadas no parágrafo anterior dependem bastante da cooperação do paciente. Por se tratar de uma mudança nos hábitos, muitas vezes esse processo é difícil, demorado ou até inalcançável. Assim, o profissional pode lançar mão de outras estratégias preventivas, como a substituição de bebidas ácidas convencionais por bebidas ácidas com o potencial erosivo reduzido, as quais são geralmente aditivadas com íons cálcio ou fosfato (17,33,84,85). Essas bebidas, entretanto, apesar de serem comercializadas, podem apresentar alguns efeitos

indesejáveis, como a alteração do sabor e efeitos sistêmicos para os consumidores. Faz-se necessário, então, mais estudos para que seja definida uma concentração adequada desses íons para cada tipo de bebida (17).

No caso de pacientes que sofrem de distúrbios gastroesofágicos, como refluxo ou aqueles que sofrem de distúrbios alimentares que envolvem vômitos recorrentes, como é o caso da bulimia, a conduta a ser tomada pelo cirurgião-dentista é a de encaminhar esses pacientes ao médico especialista, para que os fatores etiológicos sejam eliminados ou reduzidos, visando, assim, a redução da presença do suco gástrico na cavidade bucal (17).

Sabemos que a superfície desmineralizada do esmalte torna-se amolecida, e passível de ser removida devido às forças mecânicas, como as oriundas da escovação dental (86). Esta medida de higiene tão utilizada para a prevenção da cárie, tem sido motivo de muito debate no contexto da erosão dental. Um tópico de grande controvérsia está relacionado ao momento em que a escovação é realizada, se deve haver um tempo de espera depois de um desafio erosivo ou se pode ser realizada imediatamente após a este. Isso deve-se à crença de que a saliva poderia remineralizar a superfície amolecida e erodida do dente após um certo tempo, portanto, seria mais sensato que as forças abrasivas da escovação atuassem depois dessa espera em saliva (1).

Apesar de alguns estudos *in vitro* demonstrarem que quanto maior o tempo de remineralização, maior a resistência do esmalte contra a abrasão, devemos ter precaução ao extrapolar esses resultados para um cenário clínico (87). Isso, pois, nos estudos *in vitro*, no geral, é utilizada a saliva artificial, que tem um potencial remineralizador maior comparado à saliva humana, já que não contém as proteínas que impedem a deposição de minerais na superfície do dente (1). Quando se consideram os estudos *in situ*, o tempo de espera para a escovação possui uma eficácia limitada, já que esperas de até 2 h foram capazes de causar uma redução sutil ou inexistente na abrasão em esmalte (88–90). Um estudo clínico com mais de três mil adultos europeus não demonstrou nenhum efeito benéfico nos tempos de espera para a escovação (91). Por outro lado, Wiegand et al. (92) observaram em um estudo *in situ* uma menor perda de superfície quando a escovação era realizada

previamente ao desafio erosivo, podendo essa ser uma alternativa benéfica para pacientes com alto risco de desgaste erosivo.

Todavia, um estudo epidemiológico conduzido no Reino Unido demonstrou que um tempo de espera de 10 min antes da escovação não exerce influência no desgaste erosivo, não sendo este o fator substancial para a prevenção do mesmo. O que deve ser levado em consideração, de fato, é o controle e redução do consumo de bebidas e alimentos ácidos entre as refeições (93).

Outra estratégia preventiva está relacionada aos hábitos de higiene do paciente, principalmente em relação à abrasividade dos dentífricos, que depende da quantidade e tipo de abrasivo. Acreditava-se que quanto maior a abrasividade do dentífrico, maior a perda tecidual do esmalte erodido (94–97). Entretanto, estudos recentes mostraram que a perda de estrutura em esmalte está associada à quantidade de abrasivos até certa concentração, já que dentífricos com uma maior quantidade de abrasivos apresentaram menores perdas de superfície (98,99). Além disso, a dureza das cerdas das escovas dentais podem resultar em um maior ou menor desgaste. Acredita-se que escovas de filamentos macios e flexíveis levam a um aumento na duração e na área de contato de escovação, carregando dessa forma mais abrasivos (100).

## 2.4 USO DE PRODUTOS FLUORETADOS

O emprego de produtos fluoretados na prevenção e tratamento da erosão e do desgaste erosivo há tempos vem sendo estudado. Quando utilizado para combater a doença cárie, além da difusão dos íons de flúor para a sub e superfície do esmalte e da incorporação nos cristais de apatita, o flúor presente no fluido do biofilme vai aumentar a sua saturação e acelerar a remineralização em valores de pH acima de 4,5. Entretanto, quando se considera a erosão dentária, sabemos que esse fenômeno acontece em superfícies livres de biofilme, sendo assim, o mecanismo protetor do flúor acontece de maneira diferente. Frente a um desafio erosivo contínuo, a superfície amolecida de esmalte é facilmente perdida, não

permitindo que haja tempo e oportunidade para que o flúor possa atuar na remineralização. Então, acredita-se que o efeito preventivo predominante dos fluoretos deve ser o de proteção da superfície (18).

Dois mecanismos foram propostos para explicar o efeito dos fluoretos na prevenção da erosão. No caso dos produtos fluoretados monovalentes, dependendo da concentração e do pH do produto, há a formação de uma camada com depósitos semelhantes ao fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ ) nas superfícies dos dentes. Essa camada atuaria como uma barreira física, protegendo o esmalte subjacente da ação dos ácidos num primeiro momento, agindo, portanto, como uma “camada de sacrifício” a ser dissolvida (101,102). Além disso, durante o desafio erosivo, esses depósitos podem liberar  $\text{F}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  para o meio, atuando na redução da desmineralização (103). Os compostos fluoretados monovalentes mais empregados são o fluoreto de amina ( $\text{AmF}$ ), o fluoreto de sódio ( $\text{NaF}$ ), e o monofluorofosfato de sódio (MFP) (18). O outro mecanismo envolve o uso de compostos fluoretados polivalentes contendo cátions metálicos, como o fluoreto de estanho ( $\text{SnF}_2$ ) e o tetrafluoreto de titânio ( $\text{TiF}_4$ ). Nesse caso, uma camada de precipitados ricos em metal é observada, podendo haver também a incorporação do  $\text{Sn}^{2+}$  na estrutura dental, resultando em uma superfície mais ácido resistente (104–107).

Entretanto, sabe-se que quando do uso de produtos fluoretados com compostos monovalentes em concentrações baixas a moderadas e em pH neutro, como no caso de dentifrícios e alguns enxaguatórios, não há a formação de muitos depósitos de  $\text{CaF}_2$  (20), portanto, a proteção conferida por esses produtos é limitada (108,109). A acidificação desses produtos ou a sua aplicação por um tempo prolongado, ou ainda, o uso de produtos com altas concentrações de flúor, pode resultar em um efeito protetor melhorado, uma vez que os depósitos de  $\text{CaF}_2$  vão dar origem a uma camada mais espessa, densa e estável (110,111).

Esperava-se que o uso de vernizes com altas concentrações de flúor ( $\text{NaF}$ ) seriam mais eficazes do que os dentifrícios, por exemplo, na proteção contra a erosão devido a sua capacidade de aderir à superfície do dente e criar um reservatório de  $\text{CaF}_2$  (108,112). No entanto, parece que seu efeito protetor está mais relacionado a uma proteção mecânica do que química, já que vernizes sem flúor conseguiram exercer uma certa proteção contra a erosão em esmalte, frente a

desafios erosivos e erosivos/abrasivos (113,114). Além disso, o efeito protetor dos vernizes acaba declinando com o passar do tempo (115), principalmente devido a sua remoção frente aos desafios ácidos e abrasivos constantes. Isso sugere que o regime de fluoretação para prevenção da erosão deve ser realizado com maior frequência, sendo os produtos destinados ao uso caseiro os mais interessantes (18). Adicionalmente, os vernizes devem ser aplicados pelo profissional, e como eles têm um tempo de duração na cavidade bucal limitado, o paciente deveria fazer visitas regulares com curtos intervalos de tempo, o que não seria algo muito custo-efetivo.

Como o efeito anti-erosivo dos fluoretos convencionais exige um intenso regime de fluoretação (102), os estudos mais recentes têm focado em compostos fluoretados que possam promover uma eficácia maior em termos de proteção do esmalte. Nesse contexto, compostos fluoretados polivalentes contendo cátions metálicos foram testados. Estes compostos vêm demonstrando uma proteção superior contra a erosão, com maior evidência disponível para os produtos contendo a combinação do flúor e estanho (18).

O  $\text{SnF}_2$  ou a combinação entre fluoreto e estanho, adicionados como sais diferentes, são considerados promissores agentes contra a erosão dental. Estudos *in vitro* vêm demonstrando seu efeito protetor contra a erosão em esmalte, por meio de soluções (19,116–119) ou como parte de um regime mais intenso de fluoretação, envolvendo dentifrício, enxaguatório e gel (120).

Schlueter et al. (19) mostraram, na superfície do esmalte, a formação de uma camada de 500 nm de espessura após a aplicação de soluções contendo íons flúor e estanho. Nesta camada foram encontrados precipitados de fluorofosfato estanhoso, fluoreto de cálcio estanhoso e hidroxifosfato estanhoso, e sais de  $\text{CaF}_2$  (121,122). Acredita-se que esses compostos sejam diferentes ou, pelo menos, adicionais ao  $\text{CaF}_2$ , pois a camada formada adquiriu uma característica mais amorfa, além de ser mais ácido resistente. Além disso, frente a uma ciclagem erosiva, ocorrem reações de desmineralização-remineralização, que também permitiriam a incorporação do estanho à superfície do esmalte (19,107). Em resumo, a notável eficácia de soluções contendo flúor e estanho contra a erosão dental não provém somente de precipitados menos solúveis, mas da incorporação do estanho, e talvez do flúor, na estrutura do dente, resultando em uma camada estruturalmente

modificada. A incorporação do estanho parece seguir princípios de saturação, indicando que a concentração na solução não é o fator limitante para a sua eficácia, mas sim para sua incorporação máxima (19).

De fato, existem evidências mostrando uma redução na perda do esmalte *in vitro* em 78% (123) e 65% (119), quando comparados ao controle negativo, com a aplicação de enxaguatórios com flúor e estanho. Valores de porcentagem similares também puderam ser observados em estudos *in situ* com reduções na perda do esmalte em 73% (106), 65% (24), 60% (124) e 55% (125), quando comparado com o controle negativo, enquanto que o enxaguatório contendo NaF reduziu apenas 28% (106) e 19% (24). Schlueter et al. (125) observaram em um estudo *in situ* que a aplicação de um enxaguatório experimental, com uma alta concentração de estanho (1900ppm Sn<sup>2+</sup>), promoveu uma redução na perda de esmalte em 82%, enquanto que o enxaguatório comercial (405ppm Sn<sup>2+</sup>) reduziu em 55%. Porém, os voluntários do estudo reclamaram de uma sensação estranha provocada pelo enxaguatório experimental, tanto nos dentes como na mucosa. Além disso, em altas concentrações, o estanho pode levar à descoloração dos dentes. Por outro lado, Wachtel (126) em um estudo *in vitro*, notou que reduzir a concentração para 750ppm Sn<sup>2+</sup> não implica em prejuízos a sua eficácia. Levando-se em consideração um desafio erosivo-abrasivo em um estudo *in situ*, o SnF<sub>2</sub>, em uma concentração baixa indicada para enxaguatórios, inibiu quase que completamente o desgaste erosivo/abrasivo do esmalte, quando aplicado todos os dias (127).

É sabido que o flúor não possui muita substantividade na cavidade oral quando oferecido em veículos que permitem uma aplicação frequente, como os dentífricos e os enxaguatórios, o que leva à necessidade de uma alta frequência de aplicação (128). Ainda que o efeito anti-erosivo de um enxaguatório de flúor e estanho foi observado em apenas uma aplicação por dia (24), um estudo *in vitro* (119) e outro *in situ* (129) evidenciaram que dobrando essa frequência de aplicação, o efeito protetor também é aumentado no esmalte.

Além do estanho, o tetrafluoreto de titânio (TiF<sub>4</sub>) é outro composto fluoretado polivalente muito estudado. Existem evidências mostrando que o titânio tem a capacidade de formar uma camada amorfa protetora, quando em contato com a superfície do dente, promovendo dessa forma uma ação inibidora na progressão

da erosão (21,130–133). Essa camada amorfa tem origem pela alta afinidade entre os íons titânio, que são liberados após a hidrólise das moléculas de  $TiF_4$ , e os átomos de oxigênio da água ou das moléculas de fosfato da superfície do dente (134). Isso resulta em uma camada de óxido de titânio  $TiO_2$  (135), que é química e termicamente estável, e resistente à corrosão (136). Vários estudos *in vitro* reportaram um efeito protetor do  $TiF_4$  contra erosão, tanto decorrente de ácidos de origem intrínseca (105,130–132,137), como de ácidos da dieta (ácido cítrico e refrigerantes) (138–141). O  $TiF_4$  é mais eficiente em concentrações maiores, que são indicadas para aplicações em consultório (131,142), do que em concentrações e pH indicados para produtos de uso caseiro (132,143).

## 2.5 ALTERNATIVAS AO FLÚOR

Nos últimos anos, diversos agentes têm sido discutidos como potenciais alternativas aos fluoretos na prevenção da erosão dental. Esses agentes podem atuar na formação de camadas ácido resistentes na superfície do esmalte, ou na indução do reparo de lesões erodidas através da precipitação mineral (144).

### 2.5.1 Mecanismos de precipitação mineral

Agentes remineralizantes, como o CPP-ACP, hidroxiapatita zinco-carbonatada, fosfosilicato de cálcio e sódio, entre outros, foram testados para o controle da erosão dental. O mecanismo de ação destes agentes é baseado no fornecimento de íons cálcio e fosfato para o dente, que podem ser incorporados pela hidroxiapatita, favorecendo a sua reparação através da deposição mineral (144). O CPP-ACP é um derivado da proteína do leite caseína, que tem sido testado geralmente na forma de mousse ou pasta, e aplicado entre os desafios erosivos. Quando comparado ao controle negativo *in vitro*, ele conseguiu promover uma pequena redução na perda de superfície (30-35%) (145), ou nenhum efeito (146). E quando comparado com o flúor, a pasta de CPP-ACP mostrou a mesma capacidade

na recuperação da dureza do esmalte erodido que um enxaguatório fluoretado (250 ppm F) (147), porém, menos eficaz que um gel fluoretado (22,500 ppm F) na perda do esmalte (148). Baseado nessas evidências, este agente aparenta ser menos eficaz que o flúor no controle da erosão.

A hidroxiapatita pura, a nano-hidroxiapatita e a hidroxiapatita zinco-carbonatada podem ser incorporadas aos dentifrícios, no entanto, sem resultados superiores aos dentifrícios convencionais, em relação à resistência do esmalte frente a desafios erosivos/abrasivos (13).

### **2.5.2 Mecanismos de formação de camadas ácido resistentes**

Os polímeros formadores de filme são capazes de interagir com a superfície dental através de uma ligação química, formando uma nova fase, ou através de uma ligação mais fraca, uma adsorção física (149). O potencial anti-erosivo dos polímeros formadores de filme ainda não foi extensivamente investigado. A maioria dos estudos envolvendo polímeros avaliou a sua capacidade de reduzir o potencial erosivo de bebidas ácidas (27,31,48,144). Com a adição de polímeros aprovados para uso alimentício, como a goma xantana, a carboximetilcelulose (CMC), e alguns polímeros de fosfato, à uma solução de ácido cítrico pode ser observada uma redução na dissolução da hidroxiapatita (27). Beyer et al. (31) observaram uma redução significativa na perda da nanodureza do esmalte humano através da adição do propileno glicol alginato (PGA) ou da goma arábica a soluções de ácido cítrico.

Apesar de não serem muitas, existem evidências na literatura, com resultados promissores, de alguns polímeros atuando como ingredientes ativos de dentifrícios e enxaguatórios anti-erosivos, como a caseína (15), a quitosana (13), e alguns polifosfatos (25,150,151). Além de ter a capacidade de proteção contra a erosão, por si só, alguns polímeros podem aumentar a proteção exercida pelos compostos fluoretados. O Carbopol, um polímero bioadesivo, conseguiu aumentar o efeito protetor do NaF contra a erosão inicial devido a sua habilidade em quelar cálcio. Adicionalmente, frente a desafios erosivos frequentes, o Carbopol mostrou um efeito cumulativo por meio da formação de uma camada espessa, cuja capacidade de reduzir a magnitude da perda de superfície do esmalte foi independente do flúor

(28). O LPP foi outro polímero que conseguiu aumentar o efeito protetor do flúor no esmalte, frente a uma ciclagem erosiva (25) e erosiva/abrasiva (152) *in vitro*, porém, quando combinado com uma solução de flúor e estanho. Pini et al. (153) testaram a quitosana em diversas viscosidades combinada com uma solução de flúor e estanho. Frente a desafios erosivos somente, a quitosana com a maior viscosidade foi a única que permitiu um aumento na proteção exercida pela solução fluoretada, devido a deposição de uma camada mais espessa. O mesmo comportamento não de ser observado frente a desafios erosivos/abrasivos. As quitosanas em menores viscosidades exibiram uma melhor performance nesse segundo cenário, demonstrando a complexidade de uma condição erosiva/abrasiva. Sakae et al. (119) mostraram que aumentando-se a viscosidade de uma solução fluoretada ou não, implica em uma redução da perda de superfície do esmalte. Este estudo utilizou um polímero incrementador de viscosidade não-iônico, a hidroxietilcelulose, dessa maneira, dificilmente haveria uma ligação forte do polímero com a superfície do dente (154), possibilitando somente a avaliação do impacto da viscosidade em si.

Um estudo *in vitro* recente, que testou diversos polímeros formadores de filme combinados a uma solução de NaF ou NaF + SnCl<sub>2</sub>, notou que houve uma redução de 62% na perda de superfície do esmalte por meio da combinação da solução de NaF com o propileno glicol alginato (PGA) (39). Uma das limitações desse estudo foi que a abrasão não foi levada em consideração, o que talvez poderia exercer um papel na redução da durabilidade do efeito desse polímero. Além disso, a película adquirida utilizada foi formada *in vitro*, que é diferente de uma película formada *in situ*.

## 2.6 PERFILOMETRIA PARA AVALIAÇÃO DO DESGASTE EROSIVO

De acordo com evidências na literatura, a perfilometria é o método mais utilizado para quantificar a perda de superfície decorrente do desgaste erosivo em estudos *in vitro*, *in situ* e em modelos clínicos. Para o esmalte, a dureza é outro método muito utilizado, porém, mais em modelos de erosão inicial (155).

A perfilometria pode ser realizada utilizando-se um perfilometro de contato ou ótico. Em ambos os casos, a perfilometria vai quantificar a perda de superfície por meio do escaneamento da superfície do espécime, que vai gerar um perfil bi ou tridimensional. Utilizando-se um perfilometro de contato, a superfície é escaneada com uma caneta que possui uma ponta de diamante ou aço e, nesse caso, a quantificação da perda de superfície é realizada através da comparação do perfil inicial com o perfil final da amostra (155). Já no caso do perfilometro ótico, o escaneamento é feito com feixes de laser que possuem a capacidade de mapear a superfície topográfica da amostra. Assim, a quantificação da perda pode ser realizada por meio da subtração da altura de uma área de referencia hígida com a área teste da mesma amostra (156).

Um dos benefícios da utilização de um perfilometro ótico é sua acurácia, uma vez que não há o risco da ponta da caneta do perfilometro de contato causar perdas ainda maiores na superfície do esmalte, cuja camada desmineralizada mais superficial está mais susceptível à ação de forças mecânicas (156). Além disso, existe evidência de que lesões por volta de 0,5  $\mu\text{m}$  de profundidade podem ser detectadas e medidas com acurácia pela perfilometria ótica (157). Para isso, é de extrema importância que os espécimes sejam bem planos e polidos.

### 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in situ* o efeito anti-erosivo e anti-erosivo/abrasivo de uma solução de propileno glicol alginato e fluoreto de sódio, em esmalte.

As seguintes hipóteses foram testadas:

1. O polímero propileno glicol alginato será capaz de melhorar o efeito protetor do fluoreto de sódio contra desafios erosivos e abrasivos; e desafios erosivos somente.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEUA-FOUSP), onde foi obtida a isenção de sua análise, (ANEXO A), por se tratar de um estudo em que foram utilizados dentes bovinos provenientes de um frigorífico. Os dentes bovinos obtidos foram mantidos sob refrigeração, a 4°C, em solução de timol a 0,1%, para desinfecção até o momento de uso.

Concomitantemente, o estudo foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos (ANEXO B), por se tratar de um estudo *in situ*, que necessitou da participação de voluntários.

### 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este estudo utilizou um modelo *in situ*, crossover, único cego, de boca dividida, de 4 fases, envolvendo 12 voluntários que se enquadraram nos critérios de inclusão/exclusão. Em cada fase, os voluntários utilizaram dispositivos mandibulares removíveis contendo 4 espécimes de esmalte dental bovino, 2 em cada dispositivo. O estudo seguiu um delineamento experimental em blocos casualizados, tendo 2 fatores experimentais:

- 1) Tipo de tratamento em 4 níveis:
  - C: controle negativo (água destilada)
  - F: solução de fluoreto de sódio a 11,83 mM (225 ppm F<sup>-</sup>, pH=4,5)
  - F+Sn: solução de fluoreto de sódio a 11,83 mM + cloreto de estanho a 10,75 mM (225 ppm F<sup>-</sup>, 800 ppm Sn<sup>2+</sup>, pH=4,5)

- F+PGA: solução de fluoreto de sódio a 11,83 mM + propileno glicol alginato a 0,1% (225 ppm F<sup>-</sup>, pH=4,5)

2) Tipo de desafio em 2 níveis:

- Erosão
- Erosão + Abrasão

A unidade experimental foi a média dos dois fragmentos de esmalte bovino (réplicas) de cada condição (erosão e erosão + abrasão). A variável resposta foi a perda de superfície (PS, em  $\mu\text{m}$ ), determinada por perfilometria ótica.

#### 4.3 SOLUÇÕES EXPERIMENTAIS (TRATAMENTOS)

As soluções experimentais testadas nesse estudo estão apresentadas na Tabela 4.1. Para o NaF (Fluoreto de sódio, Sigma Aldrich, St Louis MO, USA) a concentração que é geralmente utilizada em enxaguatórios bucais (225 ppm F<sup>-</sup> ou aproximadamente 0,5g/l) foi escolhida (158). Para o PGA (Propileno Glicol Alginato, Sidley Chemical Co, Linyi, Shandong, China) e para o Sn<sup>2+</sup> (Cloreto de estanho, Sigma Aldrich), as concentrações foram determinadas com base em estudos anteriores (1 g/l (1000 ppm) e 1,28 g/l (800 ppm), respectivamente) (24,159). A água destilada foi utilizada como controle. O pH de todas as soluções experimentais (menos o do grupo controle) foi ajustado para o valor de 4,5, a fim de eliminar um potencial fator de confusão na interpretação dos resultados do estudo (152,160).

Tabela 4.1. Soluções experimentais, reagentes, suas concentrações e valores de pH

Soluções experimentais	Reagentes	Concentração (g/l)	pHs
A: Água destilada (controle)	N/A	N/A	5,70
B: F	NaF	0,497	4,50 <sup>1</sup>
C: F+Sn	NaF + SnCl <sub>2</sub>	0,497+1,28	4,50 <sup>1,2</sup>
D: F+PGA	NaF + PGA	0,497+1,0	4,50 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> O pH foi ajustado com solução de KOH ou Hcl concentrado

<sup>2</sup> 2,3 g/l e d-ácido glucônico foi adicionado a essa solução para estabilidade(161)

Todas as soluções utilizadas no estudo foram preparadas um dia antes de cada etapa pelo pesquisador, que estava devidamente paramentado, e foram utilizados instrumentos e recipientes limpos e autoclavados.

#### 4.4 CÁLCULO AMOSTRAL

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado com base no estudo de Scaramucci et al. (160). No referido estudo, as médias obtidas dos valores de perda de superfície, determinadas por perfilometria ótica, foram: 5,97 µm para o grupo controle e 2,68 µm para o grupo experimental F+Sn, com um desvio padrão de 1,7 µm. No programa estatístico online Sealed Envelope Ltd., aplicou-se o cálculo de diferença de médias (162) e superioridade, sendo necessário um tamanho de amostra de 7 indivíduos, em cada grupo, esperando-se um poder de 90% e nível de significância 5%. Esse cálculo foi confirmado pelo programa OriginPro 2016. Com base nesses cálculos e em estudos prévios, considerando também a possível desistência de voluntários, optou-se por utilizar um n=12 no estudo.

#### 4.5 POPULAÇÃO DO ESTUDO

A primeira visita para o recrutamento dos participantes do estudo foi realizada na clínica de Pós-Graduação da Disciplina de Dentística da FOU SP. Nessa primeira visita, eles receberam instruções verbais sobre o estudo, incluindo todos os procedimentos nele envolvidos, como também dos possíveis riscos envolvidos no experimento e da confidencialidade dos dados. Todas as informações estavam presentes no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Resolução nº196 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Distrito Federal, Brasil, 10/03/1996) (ANEXO C), os quais foram assinados em duas vias, pertencendo uma ao participante, e outra aos pesquisadores. Além disso, os possíveis participantes preencheram um formulário a respeito de sua história médica, e foram avaliados quanto as suas condições orais, por meio de um exame clínico. Após esses procedimentos, eles realizaram um teste de fluxo salivar não-estimulado e estimulado (48).

Para o teste do fluxo salivar não-estimulado, os voluntários permaneceram sentados durante 5 min em silêncio. Em seguida, eles foram orientados a engolirem toda a saliva presente na boca para o início da coleta, expectorando em tubos de centrífuga graduados durante 5 min também. Durante a coleta, eles foram instruídos a permanecerem sentados, com apenas a cabeça abaixada e com os olhos abertos, sem engolir a saliva. O volume da saliva coletado no tubo foi medido (sem incluir a espuma) e esse valor dividido por 5, para a obtenção do fluxo não-estimulado em ml/min.

Já para o teste do fluxo salivar estimulado, antes do início da coleta, os voluntários mastigaram pedaços de parafilme durante 1 min. Para iniciar a coleta, eles foram instruídos a engolirem toda a saliva presente na boca e, então, começarem a cuspir em um novo tubo de centrífuga graduado. Essa coleta foi realizada por 2 min, durante o qual o voluntário mastigava o pedaço de parafilme, sem engolir a saliva em nenhum momento. O volume de saliva foi mensurado e dividido por 2, para a obtenção do fluxo salivar estimulado em ml/min. Os valores do

fluxo salivar (FS) não-estimulado e estimulado dos participantes do estudo se encontram na tabela 4.2.

Com base nas informações coletadas nesse recrutamento, os seguintes critérios foram utilizados para a inclusão dos participantes da pesquisa (48):

- Ter pelo menos 18 anos de idade;
- Apresentar boa saúde geral;
- Ter um fluxo salivar não-estimulado e estimulado  $>0,2$  ml/min (163) e  $>1,0$  ml/min (65), respectivamente;
- Não apresentar sinais de desgastes, cárie ativa ou doença periodontal;
- Não fazer uso de aparelhos ortodônticos ou próteses removíveis.

Os critérios de exclusão do estudo foram:

- Apresentar condição médica que possa interferir na segurança do voluntário durante o período do estudo, como diabetes ou reações alérgicas às substâncias e/ou produtos de higiene oral que serão utilizados;
- Gravidez ou intenção de engravidar durante o período do estudo;
- Estar em outro estudo no mesmo período.

Os participantes também foram orientados de que poderiam desistir do estudo em qualquer momento, por qualquer razão, se assim fosse desejado. Caso algum participante viesse a ser removido por questões médicas ou odontológicas, ele seria encaminhado à profissionais da área médica ou à Clínica de Pós-Graduação da Dentística da FOUSP, e monitorado pelos pesquisadores do estudo até a resolução do quadro, ou até que este se torne não significativo clinicamente.

Tabela 4.2. Valores do fluxo salivar (FS) não-estimulado e estimulado dos participantes

Voluntário	FS não estimulado	FS estimulado
1	2,33 ml/min	3,41 ml/min
2	0,47 ml/min	2,03 ml/min
3	1,28 ml/min	2,66 ml/min
4	0,76 ml/min	1,86 ml/min
5	0,63 ml/min	1,00 ml/min
6	0,81 ml/min	3,04 ml/min
7	1,81 ml/min	6,48 ml/min
8	0,59 ml/min	1,15 ml/min
9	0,80 ml/min	2,90 ml/min
10	0,43 ml/min	1,28 ml/min
11	0,68 ml/min	1,82 ml/min
12	1,23 ml/min	3,43 ml/min

As médias (desvios-padrão) dos fluxos não-estimulado e estimulado foram, respectivamente, 0,985 (0,58) e 2,58 (1,49).

#### 4.6 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Para este estudo foram utilizados 192 incisivos bovinos recém-extraídos, obtidos de animais jovens, com idade média de 3 anos.

O preparo dos espécimes iniciou-se com a limpeza dos incisivos bovinos com curetas periodontais (Hu-Friedy, Chicago, USA), para remoção completa dos tecidos moles aderidos à superfície, e depois, estes foram submetidos à profilaxia, com uma mistura de pedra pomes e água, aplicada com escova de Robinson, em baixa rotação. Os dentes foram imersos, por 24 h, em solução de timol a 0,1% para desinfecção e, na sequência, foram armazenados em água destilada, sob refrigeração a 4°C, até a época do seu uso. Em seguida, as coroas foram separadas das raízes utilizando-se uma máquina cortadora (Labcut 1010, EXTEC®, Connecticut, USA), sob refrigeração.

Fragmentos de esmalte com 3 mm de altura x 3 mm de comprimento foram obtidos da região central da superfície vestibular das coroas, utilizando-se uma cortadora automática de alta precisão (Isomet, Buehler, Lake Buff, Illinois, USA), também sob refrigeração. Cada incisivo, em média, resultou em 4 a 5 fragmentos. Com um disco diamantado acoplado a uma peça reta, foram removidas as irregularidades da superfície pulpar dos fragmentos. Então, essa superfície foi planificada em politriz (Buehler Ltd.), utilizando-se uma lixa de carbetto de silício com granulação de #400 (Buehler Ltd.).

Finalmente, a última etapa de preparo dos espécimes consistiu na planificação e polimento das superfícies vestibulares dos fragmentos de esmalte. Nessa etapa, foi utilizada uma politriz semi-automática (Tegramin, Struers Inc., Cleveland, Ohio, USA), com uma sequência de lixas de granulação decrescente: #800, #2400, #4000 (Struers Inc.). A cada troca de lixa e ao final da sequência de polimento, os espécimes foram submetidos a um banho de ultrassom com água destilada por 3 min. Os fragmentos foram, então, observados em lupa estereoscópica para detecção de trincas ou defeitos, sendo descartados aqueles que apresentaram alguma dessas condições. As figuras 4.1 e 4.2 mostram a sequência de preparo dos espécimes.

Figura 4.1 – Secção dos espécimes



Fonte: O autor

Figura 4.2 – Planificação e polimento dos espécimes



Fonte: O autor

#### 4.7 AVALIAÇÃO DA CURVATURA INICIAL DOS ESPÉCIMES

Os espécimes foram submetidos a uma análise de perfil utilizando um perfilometro ótico (Proscan 2100, Scantron, Venture Way, Tauton, UK), com o objetivo de selecionar espécimes com uma curvatura menor que  $0,3 \mu\text{m}$ . Os espécimes obtidos apresentaram uma média (desvio-padrão) de curvatura de  $0,11 (\pm 0,1) \mu\text{m}$ . Maiores detalhes sobre a análise no perfilometro ótico estão descritos abaixo, no item “Análise da perda de superfície”.

#### 4.8 ESTERILIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES

Previamente ao início da fase experimental *in situ*, os espécimes foram submetidos à esterilização com radiação gama, com uma dose de 25 kGy (147). A fonte de irradiação utilizada foi um irradiador multipropósito de Cobalto-60 localizado no Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares – IPEN (São Paulo, SP, Brasil). Os espécimes foram armazenados em umidade relativa à  $4^{\circ}\text{C}$  até a sua utilização.

#### 4.9 PREPARO DO DISPOSITIVO INTRA-ORAL

Uma vez concluída a etapa de preparo dos espécimes e seleção dos participantes do estudo, estes tiveram suas arcadas inferiores moldadas com silicone de condensação de consistência pesada (Clonage<sup>®</sup>, DFL, Jacarepaguá, RJ, Brasil). A partir dos moldes, foram obtidos modelos de gesso (Herostone<sup>®</sup>, Vigodent, RJ, Brasil), nos quais foram confeccionados aparelhos intra-orais inferiores em resina acrílica. Nas faces vestibulares das regiões de pré-molares e molares, de ambos os lados dos dispositivos, foram realizados quatro nichos, com altura e largura de aproximadamente 4 mm e espessura de 2 mm, para evitar o contato da

superfície dos espécimes com as mucosas jugais (164). Os dispositivos foram então instalados e ajustados em uma segunda consulta com os participantes, em que eles receberam profilaxia e orientações por escrito em relação ao uso dos dispositivos (ANEXO D). Antes do uso, os dispositivos foram desinfetados com hipoclorito de sódio a 1% por 10 min, seguido de lavagem com água corrente.

Os espécimes foram aleatoriamente distribuídos entre os grupos experimentais e entre os voluntários. As superfícies polidas dos espécimes receberam fitas adesivas de cloreto de polivinil não plastificado (UPVC), cuja função foi proteger as áreas de referência, deixando uma janela central de 3 mm x 1 mm exposta aos testes subsequentes. Os espécimes foram então fixados nos nichos dos aparelhos com cera pegajosa, sendo dois espécimes em cada dispositivo do participante. Essa etapa foi realizada com o auxílio de materiais estéreis em um campo estéril. A colocação das fitas adesivas nos espécimes e a fixação deles nos nichos dos aparelhos foram realizadas na semana que antecedia cada fase do estudo. A figura 4.3 mostra os dispositivos intra-orais com os espécimes fixados nos nichos.

Figura 4.3 – Espécimes com as fitas de UPVC fixados nos nichos dos dispositivos intra-orais



Fonte: O autor

#### 4.10 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Cada fase do estudo consistiu de 5 dias de uma ciclagem erosiva-abrasiva, cada dia com 4 desafios erosivos e 2 desafios abrasivos (após o primeiro e o último desafios erosivos de cada dia). A ciclagem se iniciava com o uso dos dispositivos pelos participantes durante o período de 2 h, para a formação da película adquirida (165). Em seguida, os participantes realizavam a imersão dos espécimes em 20 ml de ácido cítrico a 1% por 5 min, extra-oralmente, para evitar o contato dos dentes naturais do participante com a solução ácida. Após o desafio erosivo, o excesso de ácido era vertido sobre um papel absorvente, sem que houvesse o contato do papel com a superfície dos espécimes, e então os dispositivos retornavam à boca. Esse procedimento foi realizado 4 vezes ao dia, com intervalos de 2 h entre os desafios ácidos. A cada desafio erosivo a solução ácida era renovada.

Uma hora após o primeiro e o último desafio erosivo, os espécimes eram expostos à suspensão dentifrício/saliva, e também, à escovação, porém este último procedimento era realizado somente nos espécimes de um lado da boca (direito para os canhotos e esquerdo para os destros). A escovação foi realizada com o auxílio de uma escova elétrica, com pressão controlada por um dispositivo que é acionado quando a força atinge 2,0 N (Oral B, Professional Care 3000, Oral B, Schwalbacham Taunus, Alemanha), e foi utilizado o dentifrício Colgate Máxima Proteção Anticáries (MFP: 1450 ppm F<sup>-</sup>). Os participantes começavam escovando as superfícies oclusais dos próprios dentes inferiores por 15 s, para formação da suspensão dentifrício/saliva. Depois, essa suspensão era transferida para a superfície dos espécimes adjacentes nos dispositivos, onde era realizado o desafio abrasivo dos espécimes. Para isso, com a escova elétrica era posicionada paralela à superfície dos espécimes, e as cerdas da escova eram pressionadas contra o dispositivo até que a luz de alerta fosse acesa, com o objetivo de simular as forças excessivas exercidas pelos pacientes com desgaste abrasivo. Assim, a escova era deslocada do dispositivo para os espécimes, sem mudar a pressão exercida, e os espécimes eram escovados por 5 s cada, sem nenhum tipo de movimento de escovação adicional. Após a escovação, a escova era desligada, porém, a

suspensão era mantida na boca dos participantes até que fosse completado o total de 2 min. No lado da boca em que os espécimes eram submetidos apenas à erosão, a suspensão obtida escovando a superfície oclusal dos dentes adjacentes foi transferida para os espécimes, mas estes não eram escovados. O contato destes espécimes com a suspensão também foi por 2 min. Em seguida, os participantes expectoravam o conteúdo restante e bochechavam água por 3 s.

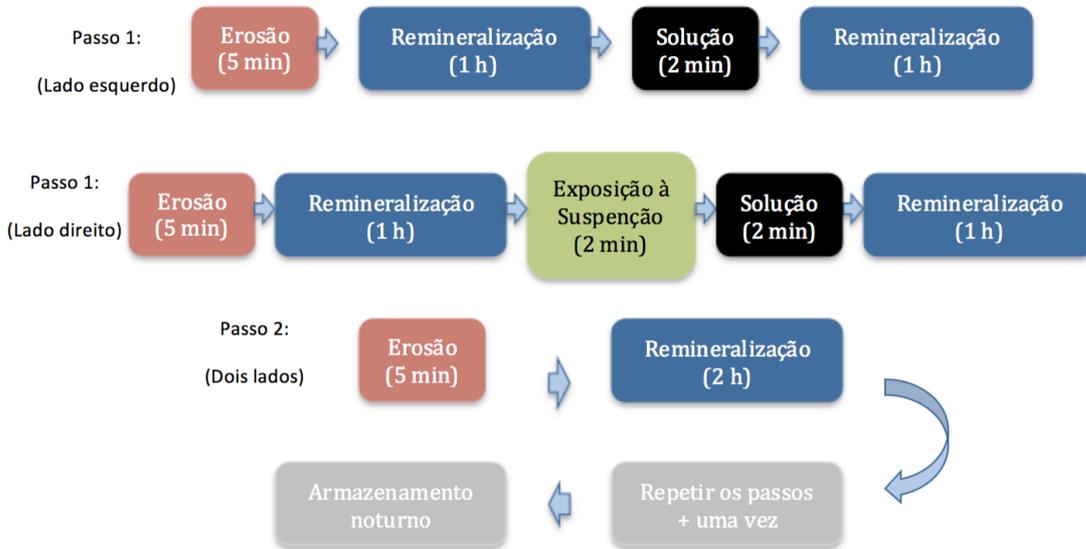
Logo após cada procedimento de abrasão ou de exposição às suspensões, os dispositivos eram removidos da boca e secos com papel absorvente sem encostar na superfície dos espécimes. Então, era realizada a aplicação dos tratamentos, imergindo os espécimes extra-oralmente em 10 ml das soluções teste por 2 min. Após o tratamento, o excesso das soluções foi vertido em papel absorvente e os dispositivos retornavam à cavidade bucal do participante, onde permaneciam por mais 1 h até o próximo desafio erosivo.

Ao final da ciclagem, o participante removia os dispositivos da boca e os armazenava em uma gaze umedecida com água destilada, dentro de um recipiente sob refrigeração a 4°C, até o início da ciclagem no dia seguinte. A figura 4.4 ilustra os procedimentos experimentais realizados.

Em anexo (ANEXO E) encontra-se o cronograma dos procedimentos, que foi fornecido aos participantes, com o intuito de guiá-los nas etapas do estudo. Estes eram fornecidos em cada fase, e os participantes deviam preencher com o horário em que cada procedimento era realizado, o que serviu como um controle para eles e também para os pesquisadores.

Os dispositivos foram usados durante o dia, pelo período de 10 h, exceto durante as refeições e higiene oral, quando eram armazenados em gaze umedecida com água destilada dentro de um recipiente com tampa. Os participantes não podiam ingerir alimentos e bebidas durante o uso dos dispositivos, somente água. Após as refeições e higiene oral, os participantes deviam aguardar 30 min para reinserção dos dispositivos na boca. A fase intra-oral do estudo teve a duração de 20 dias, e entre as fases do estudo houve um período de 7 dias de intervalo (período de *wash out*).

Figura 4.4 – Fluxograma dos procedimentos experimentais

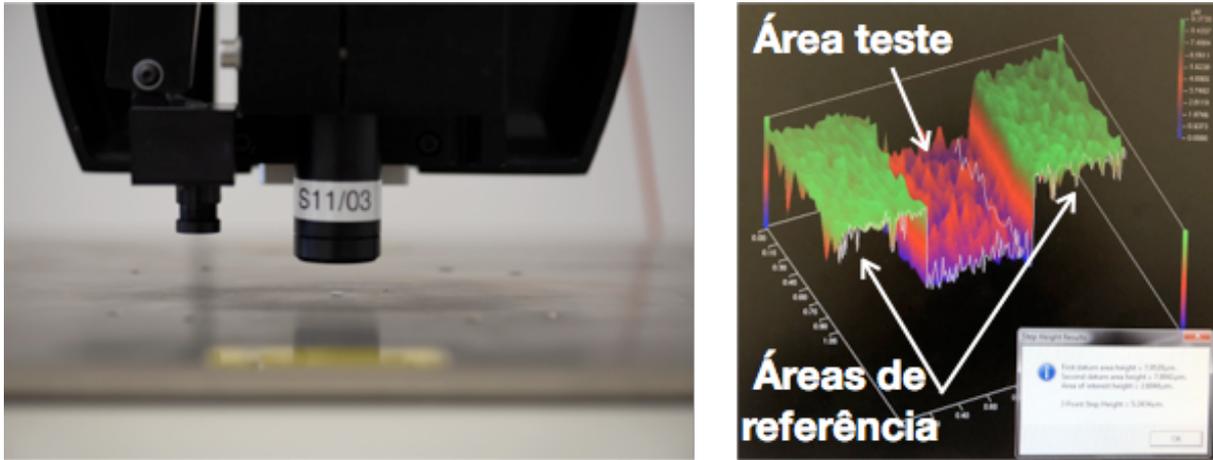


Fonte: O autor

#### 4.11 AVALIAÇÃO DA PERDA DE SUPERFÍCIE

Após os procedimentos experimentais, as fitas adesivas foram removidas das superfícies dos espécimes, e estes foram analisados por meio de um perfilmetro ótico (Proscan 2100, Scantron, Venture Way, Tauton, UK), para avaliar a perda de superfície (PS). Esse escaneamento abrangeu a área tratada e as duas áreas de referência, como mostrado na figura 4.5. Para isso, o sensor do aparelho foi programado para percorrer uma área de 2 mm de comprimento (eixo X) por 1 mm de largura (eixo Y) no centro do espécime. Esse comprimento cobriu tanto a área submetida aos desafios e tratamento (1 mm no eixo X), como as duas superfícies de referência (0,5 mm, no eixo X, de cada uma), onde as fitas estavam posicionadas. O aparelho foi programado para percorrer 200 passos, com um tamanho de 0,01 mm, no eixo X, e 20 passos, com um tamanho de 0,05 mm, no eixo Y. Com o uso de um software específico (Proscan Application software version 2,0,17), a profundidade da lesão será calculada baseada na subtração da média da altura da área teste, em relação à média da altura das superfícies de referência.

Figura 4.5 – Perfilmetro ótico realizando o escaneamento da superfície do esmalte e uma imagem representativa da superfície escaneada com os parâmetros descritos



Fonte: O autor

#### 4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade e homogeneidade dos dados numéricos de PS obtidos foram avaliadas com os testes de Shapiro-Wilks e Levene, respectivamente. Como os dados apresentaram distribuição normal e houve homocedaticidade, foi utilizado então o teste ANOVA a dois critérios para medidas repetidas, seguido do teste LSD de Fisher. O nível de significância foi 5%. O software SPSS23 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) foi utilizado para os cálculos.

## 5 RESULTADOS

Todos os voluntários completaram todas as fases experimentais do estudo (sem desistências). Os participantes não reportaram nenhuma queixa ou efeitos colaterais.

Aplicando-se o teste ANOVA a dois critérios para medidas repetidas, a interação entre o tipo de tratamento e tipo de desafio não foi significativa ( $p=0,411$ ). As médias (DP) da PS do esmalte dos diferentes tipos de tratamento e desafios estão apresentadas na tabela 5.1. O efeito dos fatores principais do estudo, tipo de tratamento ( $p<0,001$ ) e tipo de desafio ( $p=0,038$ ), mostraram-se estatisticamente significativos.

Tabela 5.1 – Médias (DP) da PS (em  $\mu\text{m}$ ) de acordo com os tratamentos e tipos de desafio. Médias gerais seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferença estatisticamente significativa entre tratamentos, independentemente do tipo de desafio ( $p<0,05$ ). Médias gerais seguidas por letras minúsculas distintas indicam diferença estatisticamente significativa entre desafios, independentemente do tratamento aplicado ( $p<0,05$ )

<b>Tratamento</b>	<b>Erosão</b>	<b>Erosão-abrasão</b>	<b>Média geral</b>
Controle	16,76 (5,15)	22,49 (5,53)	19,62 (5,99) A
F	16,16 (5,88)	19,47 (7,66)	17,81 (6,9) A
F+PGA	14,37 (4,52)	19,46 (4,89)	16,91 (5,29) A
F+Sn	11,05 (5,78)	14,55 (6,19)	12,8 (6,13) B
Média global	14,58 (5,66) a	18,99 (6,63) b	

Como apresentado na tabela 5.1, independentemente do tipo de desafio, o grupo do F+Sn apresentou uma PS significativamente menor do que a dos demais grupos (controle, F, e F+PGA), os quais não diferiram significativamente entre si.

Adicionalmente, independentemente do tipo de tratamento, a PS apresentada nos grupos que foram submetidos ao desafio erosivo-abrasivo foi significativamente maior do que nos grupos submetidos à erosão somente.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo *in situ* utilizou uma ciclagem erosiva e erosiva-abrasiva em que houve quatro imersões em ácido cítrico, por dia, num total de cinco dias. Essa ciclagem representa condições erosivas mais severas, buscando simular o cenário clínico encontrado em pacientes com alto risco de erosão, como é o caso de pacientes com um alto e frequente consumo de bebidas e alimentos ácidos. Procurou-se seguir o mesmo protocolo de erosão realizado extra-oralmente de outros estudos *in situ* prévios (106,129,160), para assim evitar o contato direto da solução ácida com os dentes dos voluntários. A escovação foi realizada *in situ*, para a simulação da condição clínica com maior fidelidade, utilizando-se um dentífrício fluoretado comum. O uso da escova elétrica com o dispositivo de alerta auxiliou na padronização da força empregada durante a escovação. As soluções experimentais utilizadas para o tratamento apresentavam uma concentração de 225 ppm F<sup>-</sup>, compatível com a de um enxaguatório bucal comercial.

Diferente do esperado, o PGA não foi capaz de melhorar a proteção exercida pelo NaF contra a erosão e, também, contra a erosão associada à abrasão, o que leva à rejeição de nossas duas hipóteses. Esse resultado é contraditório com os achados laboratoriais prévios obtidos pelo nosso grupo de pesquisa (39). O PGA é um éster de ácido algínico, que possui grupos carboxílicos, ou seja, possui sítios polares negativos, que são esterificados com propileno glicol, e que tem a habilidade de interagir com o cálcio presente na superfície dos dentes. Nosso grupo de pesquisa, no estudo mencionado, sugere que o PGA tenha ocupado os sítios ativos negativos livres na superfície do esmalte e que, devido à sua adsorção desordenada, ainda sobraram muitos sítios para o F<sup>-</sup> interagir e, assim, formar uma camada protetora mais eficiente. Esse efeito foi verificado mesmo havendo a presença de película adquirida salivar (PA), a qual foi realizada *in vitro* com saliva humana clarificada. No presente estudo, a presença da PA formada *in situ*, pode explicar a ausência da proteção adicional conferida pela combinação F+PGA.

Sabe-se que a PA é uma camada orgânica formada principalmente por proteínas salivares adsorvidas na superfície do esmalte (165). Hall et al. (166) constataram que a saliva humana coletada para uso em estudos *in vitro* pode ser alterada ou degradada, devido a quebra de proteínas e alteração do pH. Dessa

maneira, podemos supor que *in vitro* houve uma maior disponibilidade de sítios livres na superfície do esmalte para a ligação do PGA e do  $F^-$ , porém, *in situ*, devido a maior presença de proteínas, hipotetiza-se que o PGA passou a competir com as proteínas salivares por sítios de ligação na superfície do esmalte, diminuindo sua ação protetora. Ainda que parte da PA seja removida com o desafio abrasivo, a camada basal continua presente (78), o que nos sugere que essa competição também tenha ocorrido nos espécimes que foram submetidos à escovação. E assim, justifica-se o fato de que o PGA também não conseguiu promover uma melhora da ação anti-erosiva e abrasiva do  $F^-$ .

A determinação da concentração ideal do PGA utilizada na solução foi baseada em inúmeros testes *in vitro*, inclusive o de viscosidade, que avaliou se as diferentes concentrações do PGA testadas não alteravam significativamente a viscosidade da solução, a qual deveria ser compatível com a de um enxaguatório bucal (39). Além disso, estudos preliminares, realizados em nosso laboratório (dados não publicados), observaram que concentrações de PGA maiores do que 0,1% causavam apenas um incremento mínimo de proteção contra a erosão. Entretanto, considerando os resultados do presente estudo, pode-se sugerir que, *in situ*, o uso de concentrações maiores poderia aumentar a ação protetora do PGA, superando essa competição por sítios de ligação na superfície do esmalte. Assim, mais estudos são necessários para encontrar uma concentração adequada do PGA que clinicamente contribuísse com o fluoreto contra o desgaste erosivo.

Um outro ponto importante do estudo em questão foi o desafio ácido utilizado. Enquanto que no estudo de Bezerra et al. (39) os espécimes foram submetidos ao ácido cítrico a 0,3%, quatro vezes ao dia, por cinco min, o presente estudo utilizou um desafio erosivo mais agressivo, com uma concentração do ácido cítrico a 1%. Essa maior concentração de ácido cítrico utilizada no presente estudo se deve ao fato de estudos *in situ* gerarem menor PS em esmalte, o que dificultaria a observação de algum efeito entre os grupos. Porém, isso pode também ter reduzido o efeito protetor do PGA. Nessas condições, somente a solução contendo  $F+Sn$  foi capaz de reduzir o desgaste erosivo. Corroborando com esse achado, Schlueter et al. (140) mostraram que o potencial anti-erosivo do  $Sn^{2+}$  frente a desafios erosivos mais severos é ainda mais exacerbado, quando comparado com outras soluções fluoretadas.

Em concordância com achados prévios na literatura, a associação entre  $F^-$  e  $Sn^{2+}$  foi capaz de reduzir significativamente a erosão em esmalte (24,106,123,160). Decorrente da reação entre o  $F^-$  e  $Sn^{2+}$  com a hidroxiapatita, há a formação de sais de  $CaF_2$ ,  $Sn_2OHPO_4$ ,  $Sn_3F_3PO_4$ , e  $Ca(SnF_3)_2$  (122) na superfície do esmalte, formando uma camada ácido resistente (116,130). Essa camada rica em  $Sn^{2+}$  é formada tanto na superfície do esmalte hígido, como do erodido (22). Tratando-se do esmalte erodido, o  $Sn^{2+}$  também pode ser incorporado ao esmalte, alterando estruturalmente essa superfície, de maneira a se tornar menos susceptível à dissolução causada pelos ácidos (19).

Enquanto que a solução contendo F+Sn foi a única que conseguiu proteger o esmalte contra a erosão, as soluções F+PGA e F não exerceram nenhuma proteção adicional, quando comparadas com o controle negativo. Pode-se supor que a suspensão saliva/dentifrício fluoretado tenha exercido uma certa proteção aos espécimes tratados com a solução controle. Ganss et al. (167) mostraram *in vitro* que as suspensões formadas com dentifrícios fluoretados e soluções remineralizantes promoveram um efeito protetor contra a erosão. Acredita-se que, assim como as soluções fluoretadas monovalentes, o mecanismo de ação dessa suspensão é por meio da precipitação de íons do tipo  $CaF_2$  na superfície do esmalte.

Alguns estudos *in situ* prévios mostraram a habilidade de enxaguatórios contendo NaF, nas concentrações entre 500 e 950 ppm  $F^-$ , em prevenir a erosão em esmalte. No entanto, no presente estudo, foi utilizado uma solução de NaF de 225 ppm  $F^-$ , para que fosse simulado o uso de um enxaguatório disponível comercialmente no Brasil. Nessa situação, o grupo F não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Acredita-se que, devido a baixa concentração do  $F^-$ , houve uma menor formação de depósitos de  $CaF_2$ , o que não foi suficiente para exercer um efeito protetor. A camada formada pelos precipitados do tipo  $CaF_2$  devem ser suficientemente densa, de forma a construir uma barreira física, para proteger o esmalte subjacente aos ácidos, e deve ser suficientemente estável para resistir à desmineralização (22). O pH da solução de NaF foi ajustado para o mesmo valor de pH da solução F+Sn, já que o  $Sn^{2+}$  presente no grupo F+Sn tem estabilidade limitada em valores de pH mais altos (106).

Além disso, deve ser considerado o fato de que os desafios erosivos e os tratamentos foram realizados extra-oralmente, por se tratarem de soluções experimentais, podendo ter sido uma limitação do nosso estudo. Isso porque sugere-

se que quando há a exposição intra-oral de enxaguatórios fluoretados, possam existir mais sítios para a retenção do  $F^-$ , como a própria mucosa oral, promovendo uma maior disponibilidade de  $F^-$  (168). Ademais, o  $F^-$  também interagiria com o cálcio presente na saliva, possibilitando uma maior formação de precipitados de  $CaF_2$ . Também deve-se levar em consideração que o modelo *in situ* utilizado no presente estudo teve sucessivos episódios de desafios erosivos, sem exposição à saliva no período noturno. Esse fator pode ter reduzido o potencial remineralizador do esmalte erodido das soluções fluoretadas testadas (169).

Como esperado, os grupos que foram submetidos à desafio erosivo e abrasivo apresentaram uma maior PS quando comparados com os grupos que foram submetidos à erosão somente. Esses resultados estão em concordância com achados prévios na literatura (153,167,170). Isso ocorre pelo fato de que, após um desafio erosivo, a superfície do esmalte torna-se amolecida. Assim, a escovação consegue acelerar a PS, removendo o esmalte desmineralizado e amolecido por meio de forças mecânicas (45).

## 7 CONCLUSÃO

De acordo com o presente estudo *in situ*, conclui-se que somente a associação do fluoreto de sódio com o cloreto de estanho foi eficaz no controle do desgaste erosivo em esmalte, sendo uma alternativa viável para o tratamento dessa condição. A associação do fluoreto de sódio com o propileno glicol alginato não foi capaz de melhorar o efeito protetor contra a erosão e erosão-abrasão do fluoreto de sódio na superfície do esmalte.



**REFERÊNCIAS<sup>1</sup>**

1. Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:1–15.
2. Larsen M. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res.* 1990;69(Spec No: 575-80):discussion 634-6.
3. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):2–12.
4. Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:32–45.
5. Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:119–39.
6. Zero DT. Etiology of dental erosion--extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2 ( Pt 2)):162–77.
7. Schlueter N, Jaeggi T, Lussi A. Is Dental Erosion Really a Problem? *Adv Dent Res.* 2012 Sep 16;24(2):68–71.
8. Ganss C, Lussi A. Diagnosis of erosive tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:32–43.
9. Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:88–99.
10. Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:197–205.
11. Siqueira W, Custodio W, McDonald E. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res.* 2012;91(12):1110–8.
12. Hannig M, Hannig C. The pellicle and erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:206–14.

---

<sup>1</sup> De acordo com o Estilo Vancouver

13. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res.* 2011;45(6):581–9.
14. Schlueter N, Ganss C, Mueller U, Klimek J. Effect of titanium tetrafluoride and sodium fluoride on erosion progression in enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 2007;41(2):141–5.
15. White AJ, Jones SB, Barbour ME, Churchley DR, Gracia LH, Rees GD. Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: evidence for a dose-response. *J Dent.* 2012;40(8):654–60.
16. Wiegand A, Schneider S, Sener B, Roos M, Attin T. Stability against brushing abrasion and the erosion-protective effect of different fluoride compounds. *Caries Res.* 2014;48(2):154–62.
17. Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Honorio HM, Buzalaf MA. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(2):75–86.
18. Huysmans MC, Young A, Ganss C. The role of fluoride in erosion therapy. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:230–43.
19. Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C. Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: an in-vitro tin-uptake, tissue loss, and scanning electron micrograph study. *Eur J Oral Sci.* 2009;117(4):427–34.
20. Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF<sub>2</sub> precipitation and microstructure. *Caries Res.* 2001;35 Suppl 1:45–51.
21. Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:158–70.
22. Lussi A, Carvalho TS. The future of fluorides and other protective agents in erosion prevention. *Caries Res.* 2015;49 Suppl 1:18–29.
23. Koeser J, Carvalho TS, Pieles U, Lussi A. Preparation and optimization of calcium fluoride particles for dental applications. *J Mater Sci Mater Med.* 2014;25(7):1671–7.

24. Ganss C, Neutard L, Von Hinckeldey J, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion. *J Dent Res.* 2010;89(11):1214–8.
25. Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Zero DT, Aoki I V., Hara AT. Anti-erosive properties of solutions containing fluoride and different film-forming agents. *J Dent.* 2015;43(4):458–65.
26. Ganss C, Hardt M, Lussi A, Cocks AK, Klimek J, Schlueter N. Mechanism of action of tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in dentine - an in vitro tin-uptake, tissue loss, and scanning electron microscopy study. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(4):376–84.
27. 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.
28. Ávila DM da S, Zanatta RF, Scaramucci T, Aoki IV, Torres CRG, Borges AB. Influence of bioadhesive polymers on the protective effect of fluoride against erosion. *J Dent.* 2017;56:45–52.
29. Buzalaf MA, Magalhaes AC, Wiegand A. Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:244–52.
30. Hooper S, Hughes J, Parker D, Finke M, Newcombe RG, Addy M, et al. A clinical study in situ to assess the effect of a food approved polymer on the erosion potential of drinks. *J Dent.* 2007;35(6):541–6.
31. Beyer M, Reichert J, Heurich E, Jandt KD, Sigusch BW. Pectin, alginate and gum arabic polymers reduce citric acid erosion effects on human enamel. *Dent Mater.* 2010;26(9):831–9.
32. Hemingway CA, White AJ, Shellis RP, Addy M, Parker DM, Barbour ME. Enamel erosion in dietary acids: inhibition by food proteins in vitro. *Caries Res.* 2010;44(6):525–30.
33. Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki I V., Sobral MAP. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent.* 2011;39(12):841–8.

34. Ganss C, Von Hinckeldey J, Tolle A, Schulze K, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of the stannous ion and a biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. *J Dent.* 2012;40(12):1036–43.
35. Gracia LH, Brown A, Rees GD, Fowler CE. Studies on a novel combination polymer system: in vitro erosion prevention and promotion of fluoride uptake in human enamel. *J Dent.* 2010;38 Suppl 3:S4-11.
36. White AJ, Gracia LH, Barbour ME. Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. *Caries Res.* 2011;45(1):13–20.
37. Manarelli MM, Vieira AE, Matheus AA, Sasaki KT, Delbem AC. Effect of mouth rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries Res.* 2011;45(6):506–9.
38. Moretto MJ, Magalhaes AC, Sasaki KT, Delbem AC, Martinhon CC. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res.* 2010;44(2):135–40.
39. Bezerra S, João-Souza SH, Aoki IV, Borges AB, Hara AT, Scaramucci T. Anti-erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers. *Caries Res.* 2019;53(3):305–13.
40. Eccles JD. Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. *Dent Updat.* 1982;9(7):373–4, 6–8, 80–1.
41. ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2 (Pt 2)):241–4.
42. Shellis RP, Featherstone JDB, Lussi A. Understanding the Chemistry of Dental Erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:163–79.
43. Lussi A, Jaeggi T. Chemical factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:77–87.
44. Nekrashevych Y, Stosser L. Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. *Caries Res.* 2003;37(3):225–31.

45. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45(SUPPL 1):69–77.
46. Moazzez R, Bartlett D. Intrinsic Causes of Erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:180–96.
47. Barbour ME, Lussi A. Erosion in Relation to Nutrition and the Environment. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:143–54.
48. Scaramucci T, Sobral MAP, Eckert GJ, Zero DT, Hara AT. In situ evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives. *Caries Res.* 2012;46(1):55–61.
49. Ganss C, Lussi A. Diagnosis of Erosive Tooth Wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:22–31.
50. Carvalho JC, Scaramucci T, Aimée NR, Mestrinho HD, Hara AT. Early diagnosis and daily practice management of erosive tooth wear lesions. *Br Dent J.* 2018;224(5):311–8.
51. 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):65–8.
52. Olley RC, Wilson R, Bartlett D, Moazzez R. Validation of the basic erosive wear examination. *Caries Res.* 2014;48(1):51–6.
53. Ganss C, Klimek J, Lussi A. Accuracy and consistency of the visual diagnosis of exposed dentine on worn occlusal/incisal surfaces. *Caries Res.* 2006;40:208–12.
54. Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, Incidence and Distribution of Erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:55–73.
55. Salas MM, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: an epidemiological systematic review and meta-regression analysis. *J Dent.* 2015;43(1):42–50.

56. Wiegand A, Muller J, Werner C, Attin T. Prevalence of erosive tooth wear and associated risk factors in 2-7-year-old German kindergarten children. *Oral Dis.* 2006;12:117–24.
57. Bartlett DW, Lussi A, West NX, Bouchard P, Sanz M, Bourgeois D. Prevalence of tooth wear on buccal and lingual surfaces and possible risk factors in young European adults. *J Dent.* 2013;41(11):1007–13.
58. Lee VM, Linden RW. An olfactory-sub-mandibular salivary reflex in humans. *Exp Physiol.* 1992;77(1):221–4.
59. Engelen L, De Wijk RA, Prinz JF, Van Der Bilt A, Bosman F. The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. *Physiol Behav.* 2003;78(1):165–9.
60. Christensen CM, Navazesh M. Anticipatory salivary flow to the sight of different foods. *Appetite.* 1984;5(4):307–15.
61. Larsen MJ, Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol.* 2003;48(4):317–22.
62. Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent.* 2005;33(3):223–33.
63. Young W, Khan F, Brandt R, Savage N, Razek AA, Huang Q. Syndromes with salivary dysfunction predispose to tooth wear: case reports of congenital dysfunction of major salivary glands, Prader-Willi, congenital rubella, and Sjogren's syndromes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92(1):38–48.
64. Navazesh M, Christensen CM. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. *J Dent Res.* 1982;61(10):1158–62.
65. Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc.* 2008;139:18S–24S.
66. Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa AM. Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence Int (Berl). Germany;* 2010 Apr;41(4):321–33.

67. Jarvinen VK, Rytomaa II, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res.* 1991;70(6):942–7.
68. Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Delbem ACB, Machado MAAM, Silva SMB, 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.* 2006;40(3):218–23.
69. Borges AB, Scaramucci T, Lippert F, Zero DT, Hara AT. Erosion protection by calcium lactate/sodium fluoride rinses under different salivary flows in vitro. *Caries Res.* 2014;48(3):193–9.
70. Buzalaf MAR, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(5):493–502.
71. Dawes C, Jenkins GN, Tonge CH. The nomenclature of the integuments of the enamel surface of the teeth. *Br Dent J.* 1963;115:65–8.
72. Hannig M, Balz M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res.* 1999;33:372–9.
73. Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci.* 2006;19:29–64.
74. Hannig M, Herzog S, Willigeroth SF, Zimehl R. Atomic force microscopy study of salivary pellicles formed on enamel and glass in vivo. *Colloid Polym Sci.* 2001;279(5):479–83.
75. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res.* 1999;78:1821–8.
76. Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, De Vrese M. Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization--an in situ pilot study. *Clin Oral Investig.* 2003;7:158–61.
77. Carlen A, Borjesson AC, Nikdel K, Olsson J. Composition of pellicles formed in vivo on tooth surfaces in different parts of the dentition, and in vitro on hydroxyapatite. *Caries Res.* 1998;32:447–55.

78. 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.
79. Lussi A, Hellwig E. Risk Assessment and Causal Preventive Measures. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:220–9.
80. Miller CD. Enamel erosive properties of fruits and various beverages. *J Am Diet Assoc.* 1952;28(4):319–24.
81. Meurman JH, Harkonen M, Naveri H, Koskinen J, Torkko H, Rytomaa I, et al. Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect. *Scand J Dent Res.* 1990;98(2):120–8.
82. West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil.* 2000;27(10):875–80.
83. Johansson AK, Lingstrom P, Imfeld T, Birkhed D. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 2004;112:484–9.
84. Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(5):428–33.
85. Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MA. Development of an orange juice surrogate for the study of dental erosion. *Braz Dent J.* 2011;22(6):473–8.
86. Eisenburger M, Shellis RP, Addy M. Comparative study of wear of enamel induced by alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. *Caries Res.* 2003;37:450–5.
87. Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res.* 2000;34:48–52.
88. Jaeggi T, Lussi A. Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intra-oral exposure to saliva: an in situ study. *Caries Res.* 1999;33:455–61.

89. Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res.* 2001;35:216–22.
90. Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J. Efficacy of waiting periods and topical fluoride treatment on toothbrush abrasion of eroded enamel in situ. *Caries Res.* 2007;41:146–51.
91. Bartlett D, Lussi A, West NX, Bouchard P, Sanz M, Bourgeois D. Prevalence of erosive tooth wear and important risk factors: a European population-based cross-sectional study. *J Dent.* 2013;41:1007–13.
92. Wiegand A, Egert S, Attin T. Toothbrushing before or after an acidic challenge to minimize tooth wear? An in situ/ex vivo study. *Am J Dent.* 2008;21:13–6.
93. O’Toole S, Bernabe E, Moazzez R, Bartlett D. Timing of dietary acid intake and erosive tooth wear: A case-control study. *J Dent.* 2017;56:99–104.
94. Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG, Addy M. Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentine: a model in situ using toothpastes of different abrasivity. *J Clin Periodontol.* 2003;30:802–8.
95. Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhaes 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.* 2008;66:231–5.
96. Hara AT, Gonzalez-Cabezas C, Creeth J, Parmar M, Eckert GJ, Zero DT. Interplay between fluoride and abrasivity of dentifrices on dental erosion-abrasion. *J Dent.* 2009;37:781–5.
97. West NX, Hooper SM, O’Sullivan D, Hughes N, North M, Macdonald EL, et al. In situ randomised trial investigating abrasive effects of two desensitising toothpastes on dentine with acidic challenge prior to brushing. *J Dent.* 2012;40(1):77–85.
98. Ganss C, Möllers M, Schlueter N. Do Abrasives Play a Role in Toothpaste Efficacy against Erosion/Abrasion? *Caries Res.* 2017;51(1):52–7.

99. João-Souza SH, Lussi A, Baumann T, Scaramucci T, Aranha ACC, Carvalho TS. Chemical and physical factors of desensitizing and/or anti-erosive toothpastes associated with lower erosive tooth wear. *Sci Rep.* 2017;7(1):17909.
100. Dyer D, Addy M, Newcombe RG. Studies in vitro of abrasion by different manual toothbrush heads and a standard toothpaste. *J Clin Periodontol.* 2000;27(2):99–103.
101. Saxegaard E, Lagerlof F, Rølla G. Dissolution of calcium fluoride in human saliva. *Acta Odontol Scand.* 1988;46:355–9.
102. Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 2004;38(6):561–6.
103. Lussi A, Carvalho TS. The future of fluorides and other protective agents in erosion prevention. *Caries Res.* 2015;49(Suppl 1):18–29.
104. Büyükyilmaz T, Tangugsorn V, Øgaard B, Arends J, Ruben J, Rølla G. The effect of titanium tetrafluoride (TiF<sub>4</sub>) application around orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* Elsevier; 1994 Mar 1;105(3):293–6.
105. Buyukyilmaz T, Øgaard B, Rølla G. The resistance of titanium tetrafluoride-treated human enamel to strong hydrochloric acid. *Eur J Oral Sci.* 1997;105:473–7.
106. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of an experimental tin-f-containing solution in erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 2009;43(6):415–21.
107. Ganss C, Hardt M, Lussi A, Cocks AK, Klimek J, Schlueter N. Mechanism of action of tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in dentine - an in vitro tin-uptake, tissue loss, and scanning electron microscopy study. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(4):376–84.
108. Sorvari R, Meurman JH, Alakuijala P, Frank RM. Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 1994;28(4):227–32.

109. Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T. Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. *Caries Res.* 2008;42(1):62–7.
110. Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions--a review. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(4):245–53.
111. Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon ÁM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res.* 2006;40(2):148–53.
112. Vieira A, Jager DH, Ruben JL, Huysmans MC. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. *Caries Res.* 2007;41:61–7.
113. Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 2005;39:371–9.
114. Vieira A, Lugtenborg M, Ruben JL, Huysmans MC. Brushing abrasion of eroded bovine enamel pretreated with topical fluorides. *Caries Res.* 2006;40:224–30.
115. Magalhaes AC, Kato MT, Rios D, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. The effect of an experimental 4% Tif4 varnish compared to NaF varnishes and 4% TiF4 solution on dental erosion in vitro. *Caries Res.* 2008;42:269–74.
116. Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: A comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res.* 2008;42:2–7.
117. Wiegand A, Bichsel D, Magalhães AC, Becker K, Attin T. Effect of sodium, amine and stannous fluoride at the same concentration and different pH on in vitro erosion. *J Dent.* 2009;37(8):591–5.
118. Hjortsjo C, Jonski G, Young A, Saxegaard E. Effect of acidic fluoride treatments on early enamel erosion lesions—A comparison of calcium and profilometric analyses. *Arch Oral Biol.* 2010;55(3):229–34.
119. Sakae LO, Bezerra SJC, João-Souza SH, Borges AB, Aoki I V., Aranha ACC, et al. An in vitro study on the influence of viscosity and frequency of application of fluoride/tin solutions on the progression of erosion of bovine enamel. *Arch Oral Biol.* 2018 May;89:26–30.

120. Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 2001;35(5):325–30.
121. Krutchkoff DJ, Jordan TH, Wei SH, Nordquist WD. Surface characterization of the stannous fluoride-enamel interaction. *Arch Oral Biol.* 1972;17:923–30.
122. Babcock FD, King JC, Jordan TH. The Reaction of Stannous Fluoride and Hydroxyapatite. *J Dent Res.* 1978;57(9–10):933–8.
123. Schlueter N, Neutard L, Von Hinckeldey J, Klimek J, Ganss C. Tin and fluoride as anti-erosive agents in enamel and dentine in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2010;68(3):180–4.
124. Ramos-Oliveira TM, Silva CV, Nunes PM, Turssi CP, Rechmann P, Freitas PM. AmF / NaF / SnCl<sub>2</sub> solution reduces in situ enamel erosion – profilometry and cross-sectional nanoindentation analysis. *Braz Oral Res.* 2017;31:1–9.
125. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of tin-containing solutions on erosive mineral loss in enamel and dentine in situ. *Clin Oral Investig.* 2011;15(3):361–7.
126. Wachtel LW. In vitro comparison of effects of topical stannic fluoride and stannous fluoride solutions on enamel solubility. *Arch Oral Biol.* 1964;9:439–45.
127. Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Tveit AB. The effect of daily fluoride mouth rinsing on enamel erosive/abrasive wear in situ. *Caries Res.* 2013;47(1):2–8.
128. Mason SC, Shirodaria S, Sufi F, Rees GD, Birkhed D. Evaluation of salivary fluoride retention from a new high fluoride mouthrinse. *J Dent.* 2010;38(SUPPL.3).
129. Da Silva C V., Ramos-Oliveira TM, Mantilla TF, De Freitas PM. Frequency of Application of AmF/NaF/SnCl<sub>2</sub>Solution and Its Potential in Controlling Human Enamel Erosion Progression: An in situ Study. *Caries Res.* 2017;51(2):141–8.
130. Hove L, Holme B, Øgaard B, Willumsen T, Tveit AB. The protective effect of TiF<sub>4</sub>, SnF<sub>2</sub> and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res.* 2006;40(5):440–3.

131. Hove LH, Holme B, Young A, Tveit AB. The erosion-inhibiting effect of TiF<sub>4</sub>, SnF<sub>2</sub>, and NaF solutions on pellicle-covered enamel in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2007;65(5):259–64.
132. Wiegand A, Waldheim E, Sener B, Magalhães AC, Attin T. Comparison of the effects of TiF<sub>4</sub> and NaF solutions at pH 1.2 and 3.5 on enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 2009;43(4):269–77.
133. Wiegand A, Magalhães AC, Attin T. Is titanium tetrafluoride (TiF<sub>4</sub>) effective to prevent carious and erosive lesions? A review of the literature. *Oral Health Prev Dent.* 2010;8(2):159–64.
134. Lepri TP, Colucci V, Turssi CP, Corona SAM. Permeability of eroded enamel following application of different fluoride gels and CO<sub>2</sub> laser. *Lasers Med Sci.* 2013;28(1):235–40.
135. Tveit AB, Klinge B, Totdal B, Selvig KA. Long-term retention of TiF<sub>4</sub> and SnF<sub>2</sub> after topical application to dentin in dogs. *Scand J Dent Res.* 1988;96(6):536–40.
136. Gordon TR, Cargnello M, Paik T, Mangolini F, Weber RT, Fornasiero P, et al. Nonaqueous synthesis of TiO<sub>2</sub> nanocrystals using TiF<sub>4</sub> to engineer morphology, oxygen vacancy concentration, and photocatalytic activity. *J Am Chem Soc.* 2012;134(15):6751–61.
137. Hove LH, Holme B, Stenhagen KR, Tveit AB. Protective effect of TiF<sub>4</sub> solutions with different concentrations and pH on development of erosion-like lesions. *Caries Res.* 2011;45(1):64–8.
138. van Rijkom H, Ruben J, Vieira A, Huysmans MC, Truin GJ, Mulder J. Erosion-inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment in vitro. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(3):253–7.
139. Schlueter N, Ganss C, Mueller U, Klimek J. Effect of titanium tetrafluoride and sodium fluoride on erosion progression in enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 2007;41(2):141–5.
140. Schlueter N, Duran A, Klimek J, Ganss C. Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Caries Res.* 2009;43(1):10–6.

141. Vieira AM, Ruben JL, Bronkhorst EM, Huysmans MC. In vitro reduction of dental erosion by low-concentration TiF<sub>4</sub> solutions. *Caries Res.* 2011;45(2):142–7.
142. Hove LH, Holme B, Young A, Tveit AB. The protective effect of TiF<sub>4</sub>, SnF<sub>2</sub> and NaF against erosion-like lesions in situ. *Caries Res.* 2008;42(1):68–72.
143. Wiegand A, Magalhaes AC, Sener B, Waldheim E, Attin T. TiF<sub>4</sub> and NaF at pH 1.2 but not at pH 3.5 are able to reduce dentin erosion. *Arch Oral Biol.* 2009;54(8):790–5.
144. Buzalaf MA, Magalhaes AC, Wiegand A. Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:244–52.
145. Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent.* 2007;35(4):355–7.
146. Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent.* 2011;39(2):163–70.
147. Wegehaupt FJ, Taubock TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta Odontol Scand.* 2012;70(3):177–83.
148. Wegehaupt FJ, Attin T. The role of fluoride and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate in the prevention of erosive/abrasive wear in an in vitro model using hydrochloric acid. *Caries Res.* 2010;44(4):358–63.
149. Umoren SA, Eduok UM. Application of carbohydrate polymers as corrosion inhibitors for metal substrates in different media: A review. *Carbohydr Polym.* 2016;140:314–41.
150. Manarelli MM, Moretto MJ, Sasaki KT, Martinhon CCR, Pessan JP, Delbem ACB. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion. *Am J Dent.* 2013;26(6):307–12.
151. Do Amaral JG, Delbem ACB, Pessan JP, Manarelli MM, Barbour ME. Effects of polyphosphates and fluoride on hydroxyapatite dissolution: A pH-stat investigation. *Arch Oral Biol.* 2016;63:40–6.

152. Scaramucci T, João-Souza SH, Lippert F, Eckert GJ, Aoki I V., Hara AT. Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents. *Caries Res.* 2016;50(2):104–10.
153. Pini NIP, Lima DANL, Lovadino JR, Ganss C, Schlueter N. In vitro Efficacy of Experimental Chitosan-Containing Solutions as Anti-Erosive Agents in Enamel. *Caries Res.* 2016;50(3):337–45.
154. Aykut-Yetkiner A, Wiegand A, Bollhalder A, Becker K, Attin T. Effect of acidic solution viscosity on enamel erosion. *J Dent Res.* 2013;92(3):289–94.
155. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):13–23.
156. Attin T, Wegehaupt FJ. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:123–42.
157. Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci.* 2008;116(1):60–5.
158. Mathews MS, Amaechi BT, Ramalingam K, Ccahuana-Vasquez RA, Chedjieu IP, Mackey AC, et al. In situ remineralisation of eroded enamel lesions by NaF rinses. *Arch Oral Biol.* 2012;57(5):525–30.
159. Baig A. Method of protecting teeth against erosion. United States; 2004.
160. João-Souza SH, Bezerra SJC, de Freitas PM, de Lima NB, Aranha ACC, Hara AT, et al. In situ evaluation of fluoride-, stannous- and polyphosphate-containing solutions against enamel erosion. *J Dent.* 2017;63:30–5.
161. Hara AT, Lippert F, Zero DT. Interplay between Experimental Dental Pellicles and Stannous-Containing Toothpaste on Dental Erosion-Abrasion. *Caries Res.* 2013;47(4):325–9.
162. Julious SA. Sample sizes for clinical trials with normal data. *Stat Med.* 2004;23(12):1921–86.

163. Bardow A, Nyvad B, Nauntofte B. Relationships between medication intake, complaints of dry mouth, salivary flow rate and composition, and the rate of tooth demineralization in situ. *Arch Oral Biol.* 2001;46(5):413–23.
164. Macdonald E, North A, Maggio B, Sufi F, Mason S, Moore C, et al. Clinical study investigating abrasive effects of three toothpastes and water in an in situ model. *J Dent.* 2010;38(6):509–16.
165. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and Dental Pellicle-A Review. *Adv Dent Res.* 2000;44:151–9.
166. Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. *J Dent.* 1999;27:333–9.
167. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res.* 2011;45(6):581–9.
168. Zero DT, Raubertas RF, Pedersen AM, Fu J, Hayes AL, Featherstone JD. Studies of fluoride retention by oral soft tissues after the application of home-use topical fluorides. *J Dent Res.* 1992;71:1546–52.
169. Hara AT, Kelly SA, Gonzalez-Cabezas C, Eckert GJ, Barlow AP, Mason SC, et al. Influence of fluoride availability of dentifrices on eroded enamel remineralization in situ. *Caries Res.* 2009;43:57–63.
170. Schlueter N, Lussi A, Tolle A, Ganss C. Effects of Erosion Protocol Design on Erosion/Abrasion Study Outcome and on Active Agent (NaF and SnF<sub>2</sub>) Efficacy. *Caries Res.* 2016;50(2):170–9.

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética no Uso de Animais

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Tel. (11) 3091 7842  
ceuafo@usp.br

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo CEUA/FOUSP N° 006/2018 referente ao projeto intitulado: “Avaliação *in situ* do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato” sob a responsabilidade de execução dos autores Profa. Dra. Tais Scaramucci Forlin e da aluna Letícia Oba Sakae, foi analisado e considerado isento de análise da CEUA por utilizar material de origem animal: dentes bovinos provenientes de frigorífico.

São Paulo, 08 de março de 2018.

Prof. Dr. Victor Elias Arana-Chavez  
Coordenador da CEUA/FOUSP



## ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação in situ do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato

**Pesquisador:** Leticia Oba Sakae

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 79953617.5.0000.0075

**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.485.328

**Apresentação do Projeto:**

"Esse estudo utilizará um modelo in situ, crossover, único cego de 4 fases, envolvendo 12 voluntários que se encaixarem nos critérios de inclusão/exclusão. Em cada fase, os voluntários utilizarão dispositivos mandibulares removíveis contendo 4 espécimes de esmalte dental bovino. O estudo seguirá um delineamento experimental totalmente aleatorizado, tendo 2 fatores experimentais:

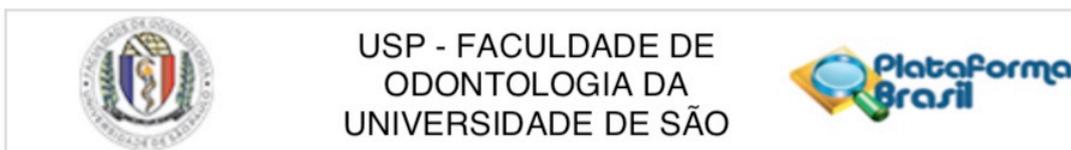
1) Soluções experimentais em 4 níveis:

- C: Controle (água deionizada)
- F: solução de fluoreto de sódio a 11,83 mM (225 ppm de F, pH=4,5)
- F+Sn: Solução de fluoreto de sódio a 11,83 mM + Cloreto de estanho a 10,75 mM (225 ppm de F, 800 ppm de Sn, pH=4,5)
- F+PGA: Solução de fluoreto de sódio (11,83mM) + Propileno Glicol Alginato (0,1%), pH=4,5)

2) Tipo de desafio:

- Erosão
- Erosão/Abrasão
- Unidade experimental: 192 espécimes de esmalte bovino.
- Variável resposta: Perda de superfície (em m), determinada por perfilometria ótica.

**Endereço:** Av Prof Lineu Prestes 2227  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br



Continuação do Parecer: 2.485.328

**Objetivo da Pesquisa:**

"O objetivo desse estudo é avaliar in situ o efeito anti-erosivo de soluções contendo fluoreto de sódio (225 ppm F), fluoreto de sódio + cloreto de estanho (F+Sn: 225 ppm F + 800 ppm Sn), fluoreto de sódio + propileno glicol alginato (F+PGA: 225 ppm F + 0,1% PGA) e da água deionizada (controle negativo), em esmalte."

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos e benefícios foram bem mensurados pela pesquisadora.

"Riscos: O risco inerente à fase experimental é mínimo. Apenas pode ser que haja algum desconforto ligado ao uso dos aparelhos, que, entretanto, não acarretam risco à saúde do voluntário e que podem ser minimizados com um ajuste criterioso do dispositivo. Como os desafios erosivos e o tratamento serão realizados fora da boca, não se prevê nenhum risco ao paciente."

"Benefícios: Este estudo não te antecipará qualquer benefício direto ou compensação financeira. O benefício relacionado à sua participação será de indiretamente contribuir com o aprendizado sobre o assunto pesquisado. Essa pesquisa poderá fornecer informações importantes na prevenção da erosão dentária."

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Todas as pendências foram cumpridas pela pesquisadora e por isso a pesquisa encontra-se adequada para aprovação.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os documentos apresentados estão adequados: Folha de Rosto, TCLE, Autorização do LELO, Questionário, Projeto Detalhado.

**Recomendações:**

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site [www.saude.gov.br/plataformabrasil](http://www.saude.gov.br/plataformabrasil)).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

**Endereço:** Av Prof Lineu Prestes 2227  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

Texto ou documento não elaborado pelo autor, que serve de fundamentação, comprovação e ilustração.



USP - FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO



Continuação do Parecer: 2.485.328

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_933934.pdf	24/01/2018 21:06:13		Aceito
Outros	Autorizacao.pdf	24/01/2018 21:05:21	Leticia Oba Sakae	Aceito
Outros	Questionario.docx	24/01/2018 21:04:25	Leticia Oba Sakae	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEinsitu1.doc	24/01/2018 21:03:15	Leticia Oba Sakae	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	24/01/2018 21:01:51	Leticia Oba Sakae	Aceito
Folha de Rosto	arquivoplataformabrasil.pdf	22/06/2017 17:38:51	Leticia Oba Sakae	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 05 de Fevereiro de 2018

---

**Assinado por:**  
**Maria Gabriela Haye Biazevic**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Av Prof Lineu Prestes 2227  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br



## ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Página 1 de 4

**TCLE – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Resolução 466 CNS de 2012 e Norma Operacional CNS 001/2013

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) da pesquisa: **“Avaliação in situ do efeito anti-erosivo da associação entre o fluoreto de sódio e o propileno glicol alginato”** que tem como objetivo avaliar o efeito protetor contra a erosão de diferentes soluções contendo flúor em esmalte dental bovino, a ser realizada pela aluna do curso de Mestrado em Dentística Letícia Oba Sakae, sob orientação da Profa. Dra. Taís Scaramucci, no Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da USP (FOUSP).

Se aceitar participar desta pesquisa, primeiramente, será aplicado um formulário de história médica, seguida pela realização de um exame clínico oral, para determinação de suas condições orais. Uma vez dentro dos critérios de inclusão, o participante utilizará um dispositivo inferior removível contendo amostras de esmalte esterilizadas com radiação gama no Ipen. Todas as dúvidas serão esclarecidas com o pesquisador. O participante da pesquisa receberá 1 kit contendo itens de higiene oral e outro kit contendo todos os materiais de uso desta pesquisa. A entrega será realizada no Departamento de Dentística da FOUSP, no dia e local em que o participante da pesquisa estiver presente.

**Contexto e objetivos da pesquisa:** A erosão dental é a perda gradual dos tecidos duros dos dentes (esmalte e dentina) causada por ação de ácidos, que comumente estão presentes na dieta, como nos refrigerantes e nos sucos de frutas cítricas. As lesões de erosão podem ser reproduzidas no laboratório em fragmentos de dentes. Esses fragmentos podem então ser fixados em dispositivos removíveis que serão utilizados na boca dos participantes da pesquisa, a fim de nos ajudar a testar produtos para combater esse processo. Nesse estudo, iremos testar 4 soluções contendo diferentes substâncias com o objetivo de prevenir a erosão.

**Justificativa:** Há a necessidade de se buscar substâncias efetivas para a prevenção e o controle da erosão dental. Este estudo testará diferentes substâncias em um modelo que simula a situação clínica com mais fidelidade.

**Crterios de inclusão:** ter capacidade de usar dispositivos removíveis de dia, durante o experimento, com exceção dos momentos de procedimentos do estudo; nenhuma evidência de erosão dental, cáries ativas, ou doença periodontal; possuir um fluxo salivar estimulado e não estimulado de  $>0.2$  ml/min e  $>1.0$  ml/min, respectivamente; apresentar uma boa saúde geral; não fazer uso de próteses removíveis ou aparelhos ortodônticos; e ter pelo menos 18 anos de idade. Serão excluídos os voluntários com qualquer condição médica que possa interferir na segurança do voluntário; gravidez ou intenções de engravidar durante o período do estudo; ou estar participando de outro estudo no mesmo período.

**Procedimentos:** Os participantes da pesquisa terão suas arcadas dentais moldadas para a confecção de dois aparelhos removíveis em resina acrílica, que ficarão em contato com a face vestibular (do lado de fora da arcada, entre bochecha e gengiva) na região dos pré-molares e molares inferiores, os quais irão conter os fragmentos de

esmalte bovino. Inicialmente, será realizada uma coleta de saliva para os pesquisadores avaliarem o fluxo salivar do participante da pesquisa. Após a coleta e análise dos dados, a saliva será descartada em local apropriado para este tipo de descarte no laboratório de Dentística da FOU SP.

Durante o experimento, o participante da pesquisa deverá utilizar exclusivamente a escova dental, a pasta de dente (Colgate Máxima proteção anti-cáries) e o fio dental fornecidos pela pesquisadora. A cada semana o participante da pesquisa receberá uma solução diferente, sendo elas diferenciadas pela sua composição. As soluções utilizadas serão: água deionizada, fluoreto de sódio, fluoreto de sódio + cloreto de estanho, e fluoreto de sódio + propileno glicol alginato.

O experimento total irá durar 8 semanas, sendo 4 fases compostas de 5 dias de utilização do aparelhos removíveis (com exceção dos fins de semana) e 7 dias de pausa (wash out) entre essas fases. Na prática, o dispositivo será utilizado pelo participante da pesquisa durante 20 dias.

Durante as semanas de uso do dispositivo, os espécimes serão submetidos à simulação de erosão, abrasão e ac tratamento com as soluções teste.

Durantes as 4 semanas de utilização dos aparelhos, o participante da pesquisa, irá imergir os mesmos em ácido cítrico 1% (pH 2,6) por 5 minutos, 4 vezes ao dia, em intervalos de 2 horas entre as imersões, durante os dias e horários pré-determinados. Após este procedimento, o excesso de ácido deve ser vertido sobre um papel absorvente e o aparelho será reinserido na boca. Sessenta minutos após o primeiro e o último desafios erosivos do dia, o participante da pesquisa deverá imergir o aparelho do lado esquerdo na solução teste por 2 minutos. Já para o aparelho do lado direito, o participante da pesquisa deverá realizar a escovação, com escova elétrica e a pasta de dente fornecidas pela pesquisadora por 5 segundos, de acordo com as instruções previamente apresentadas durante o treinamento com a pesquisadora. Somente após a abrasão, o aparelho do lado direito deverá ser imerso na solução teste também por 2 minutos.

O participante da pesquisa deverá comparecer à FOU SP 2 vezes por semana, durante as 4 semanas de utilização do aparelho em dias pré-determinados pela pesquisadora. Uma vez será para recolhimento das amostras pós-ciclagem, e outra, para entrega do aparelho com novas amostras e soluções teste para a próxima fase.

**Ressarcimento:** A participação no estudo não acarretará custos para o participante da pesquisa e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional. O participante da pesquisa será ressarcido(a) de eventuais despesas com transporte para comparecimento na FOU SP para realização dos procedimentos laboratoriais. Não há indenização prevista, pois a presente pesquisa não oferece qualquer dano ao participante.

**Assistência em virtude de danos decorrentes da pesquisa:** O participante da pesquisa receberá assistência

imediatamente para qualquer dúvida ou desconforto que surgir durante a fase experimental.

**Indenização:** Como não existem danos decorrentes do estudo, não será necessário nenhum tipo de indenização.

**Benefícios:** Este estudo não antecipará qualquer benefício direto ou compensação financeira para o participante da pesquisa. O benefício relacionado à participação será de indiretamente contribuir com o aprendizado sobre o assunto pesquisado. Essa pesquisa poderá fornecer informações importantes na prevenção da erosão dentária.

**Custos:** Não existem custos. Todo o material será fornecido pela pesquisadora e as visitas serão agendadas conforme sua disponibilidade.

**Riscos:** O risco inerente à fase experimental é mínimo. Apenas pode ser que haja algum desconforto ligado ao uso dos aparelhos, que, entretanto, não acarretam risco à saúde do participante da pesquisa e que podem ser minimizados com um ajuste criterioso do dispositivo. Como os desafios erosivos e o tratamento serão realizados fora da boca, não se prevê nenhum risco ao participante da pesquisa.

**Acesso aos resultados dos exames:** Se for de interesse do participante da pesquisa, haverá acesso aos resultados da pesquisa.

**Confidencialidade de dados:** Asseguramos que os dados da pesquisa são confidenciais. Os resultados serão publicados em revistas científicas e eventos, sem exposição da privacidade do participante da pesquisa. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Curso de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e outra será fornecida ao participante da pesquisa.

**Liberdade de recusa em participar do estudo:** O participante da pesquisa poderá desistir a qualquer momento da pesquisa, sem penalizações ou prejuízos.

**Liberdade de retirada do consentimento:** O participante da pesquisa tem plena liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento da pesquisa, sem penalizações.

**Interrupção do estudo:** O participante da pesquisa tem liberdade de realizar a interrupção do estudo quando julgar necessário. Além do mais, deve sair do estudo em caso de surgimento de condições médicas que possam interferir no estudo, devendo entrar em contato com o pesquisador imediatamente.

**Meios de contato com o pesquisador:** O participante da pesquisa pode entrar em contato, para esclarecimentos e afins, com os pesquisadores responsáveis: Profa. Dra. Taís Scaramucci ([tais.sca@usp.br](mailto:tais.sca@usp.br)) e Letícia Oba Sakae ([leticia.sakae@usp.br](mailto:leticia.sakae@usp.br)) na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – FOU SP no departamento de Dentística, ou no telefone para contato (11) 3091-7645 de segunda a sexta-feira das 9 às 12h e 14 às 16h (exceto

feriados e recesso universitário).

**Meio de contato com o CEP/CONEP:** Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa, o participante da pesquisa pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (Seres Humanos) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (Av. Prof. Lineu Prestes, 2227 – 05508-000 – São Paulo, SP. Fone: (11) 3091-7960 – E-mail: [cepfo@usp.br](mailto:cepfo@usp.br). Horário de funcionamento: segunda a sexta-feira das 9 às 12h e 14 às 16h, (exceto em feriados e recessos universitários). O Comitê é um colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos. (Resolução CNS nº 466 de 2012)

Após ter sido informado e ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pelo pesquisador, concordo em participar de forma voluntária desta pesquisa.

Local e data: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Letícia Oba Sakae – Pesquisador Responsável

\_\_\_\_\_  
Taís Scaramucci – Pesquisador Responsável

Uma via deste termo ficará com o Sr(a). Este contém o telefone para contato dos pesquisadores. O Sr(a) poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Desde já agradecemos a sua contribuição.

## ANEXO D – Orientações aos participantes

**Orientações Ciclagem In Situ – Letícia Sakae**

Olá! Primeiramente, obrigada por aceitar participar deste estudo! Além de estar contribuindo para o meu trabalho de dissertação, estará contribuindo para o aprofundamento do conhecimento sobre a erosão dental.

Este estudo irá durar 8 semanas, sendo 4 fases compostas de 5 dias de utilização dos aparelhos removíveis (com exceção dos fins de semana) e 7 dias de pausa (wash out) entre essas fases. Durante este período, você deverá utilizar exclusivamente a escova dental, a pasta de dente (Colgate Máxima proteção anti-cáries) e o fio dental fornecidos por mim.

Durante as semanas de uso dos aparelhos, os espécimes serão submetidos à erosão, abrasão e ao tratamento com as soluções teste. Você deverá imergir os mesmos em ácido cítrico 1% (pH 2,6) por 5 minutos, 4 vezes ao dia, em intervalos de 2 horas entre as imersões, durante os dias e horários pré-determinados. Após este procedimento, o excesso de ácido deve ser vertido sobre um papel absorvente e o aparelho será reinserido na boca. A solução ácida será renovada a cada desafio erosivo.

Uma hora após o primeiro e último desafios ácidos, os espécimes serão expostos à suspensão de saliva com dentífrício. Você deverá colocar o equivalente a um grão de ervilha na cabeça da escova elétrica, e iniciar a escovação da face oclusal dos próprios molares inferiores por 15s, para formação dessa suspensão, em ambos os lados. Então essa suspensão será transferida da superfície oclusal para a superfície adjacente aos espécimes nos dispositivos. A escovação será realizada do lado esquerdo para destros, e do lado direito para os canhotos. A escova elétrica deve estar paralela à superfície dos espécimes, e as cerdas da escova deverão ser pressionadas contra o dispositivo até que a luz de alerta seja acesa, a fim de simular as forças excessivas exercida pelos pacientes com abrasão. Então, a

escova será movimentada ao longo do dispositivo até atingir os espécimes sem mudar a pressão exercida, e os espécimes são escovados sem nenhum tipo de movimento de escovação adicional durante 5 s cada. Após a escovação, a escova é desligada, porém a suspensão é mantida na boca dos voluntários até que seja completado o total de 2 min. Em seguida os voluntários são orientados a cuspir o conteúdo restante e bochechar água por 3 s, seguido da remoção do dispositivo, para então ser realizado o tratamento com as soluções experimentais.

Os espécimes serão expostos à 20 ml das soluções teste por 2 min. Antes dos tratamentos, os espécimes serão secos com papel absorvente. O excesso da suspensão dentifrício/saliva e das soluções teste após o tratamento também será vertido sobre papel absorvente.

Os dispositivos serão usados durante o dia (10 h), exceto durante as refeições e durante a higiene oral, quando deverão ser armazenados em recipientes com tampa contendo uma gaze umidificada com água deionizada. Os voluntários poderão beber somente água com os aparelhos *in situ*.

Após as refeições, ingestão de bebidas e higiene oral, os voluntários deverão aguardar 15 min para reinserção do dispositivo na boca. Durante a noite, os dispositivos serão armazenados nos recipientes com a gaze umidificada e armazenados sob refrigeração a 4°C.

Agora vamos lá! Boa semana de ciclagem! Qualquer coisa estou à disposição!

Letícia Oba Sakae (11) 97305-7100/ sakaeleticia@gmail.com

## ANEXO E – Cronograma dos procedimentos

**Cronograma Ciclagem – 1ª semana**

	15/05	16/05	17/05	18/05	21/05
Inserção do aparelho (2h)					
Ácido (5min)					
Saliva (1h)					
Exposição à suspensão (2min)					
Solução (2min)					
Saliva (1h)					
Ácido (5min)					
Saliva (2h)					
Ácido (5min)					
Saliva (2h)					
Ácido (5min)					
Saliva (1h)					
Exposição à suspensão (2min)					
Solução (2min)					
Saliva (1h)					