



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**INFLUÊNCIA DA REMINERALIZAÇÃO DE ESMALTE DENTÁRIO
ERODIDO COM NANOCOMPLEXOS FLUORETADOS DERIVADOS
DA CASEÍNA (CPP-ACFP) NAS FORÇAS ADESIVAS DE
RESTAURAÇÕES DIRETAS**

Trabalho submetido por

Rita Gonçalves de Menezes Montenegro Romeu

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**INFLUÊNCIA DA REMINERALIZAÇÃO DE ESMALTE DENTÁRIO
ERODIDO COM NANOCOMPLEXOS FLUORETADOS DERIVADOS
DA CASEÍNA (CPP-ACFP) NAS FORÇAS ADESIVAS DE
RESTAURAÇÕES DIRETAS**

Trabalho submetido por

Rita Gonçalves de Menezes Montenegro Romeu

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho Orientado por

Doutora Ana Vieira

Setembro de 2017

AGRADECIMENTOS:

À minha orientadora, Doutora Ana Vieira, por todos os conhecimentos transmitidos, por toda a dedicação e amizade.

Ao Doutor Mário Polido, não só por ter disponibilizado o laboratório para a realização desta investigação, mas também pela orientação no funcionamento das máquinas.

A todos os professores que me acompanharam ao longo deste percurso, contribuindo para a educação de excelência, característica da Egas Moniz.

À 3M ESPE pelo material que disponibilizou para a realização deste estudo.

Ao laboratório de Bioquímica, pela realização da saliva artificial.

À Ana Beirão e ao João Campos, os meus parceiros nesta investigação que certamente a tornaram numa experiência muito mais rica e inesquecível.

Aos meus pais, pelos excelentes valores que me transmitiram, por terem sido e serem exemplos a seguir, e sobretudo por toda a dedicação e amor.

À minha irmã, pela bonita relação que temos, rica em amizade, amor e carinho.

Aos meus avós, que mesmo não podendo estar presentes, estão certamente a olhar por mim e no meu coração. Particularmente à minha avó Neta, que esteve presente nesta etapa na minha vida e que infelizmente não teve a alegria de a ver terminar.

A todos os meus amigos que me apoiaram incondicionalmente e estiveram comigo tanto nos bons como nos maus momentos.

RESUMO

Objetivos: Estudar a capacidade de remineralização de esmalte erodido com CPP-ACFP e com fluoreto de sódio, bem como a influência da remineralização prévia do esmalte nas forças adesivas de restaurações diretas.

Material e Métodos: Foram selecionados para este estudo *in vitro*, 40 incisivos inferiores de bovino, hígidos, que se dividiram aleatoriamente em 4 grupos (n=10): Er (erosão/saliva artificial), Er-CPP-ACFP (erosão/saliva artificial + remineralização com CPP-ACFP), Er-NaF (erosão/saliva artificial + remineralização com fluoreto de sódio) e nEr-NaF (remineralização com fluoreto de sódio). A erosão foi simulada, em ciclos, com o refrigerante Sprite[®]. A microdureza foi avaliada com o teste de Vickers no início (t₀), no final do primeiro dia de protocolo erosivo (t₁) e no final do estudo (t₂). Posteriormente, foram aderidas ao esmalte restaurações diretas em resina composta. Após o armazenamento em água destilada, numa estufa a 37° Celsius durante 24 horas, os dentes restaurados foram cortados em palitos que se testaram com o teste de microtração, para determinar a força de adesão em MPa. As variáveis dependentes “força de adesão” “FA”, “microdureza” “MD” e “tipo de fratura” foram analisadas estatisticamente.

Resultados: Dos grupos erodidos, o grupo Er-CPP-ACFP foi o único que conseguiu recuperar a MD inicial após os ciclos de erosão/remineralização (p=0.427). Relativamente à FA, apenas entre os grupos Er e nEr-NaF se verificou uma diferença estatisticamente significativa (p=0.021), sendo os restantes grupos semelhantes entre si. Observou-se também que a distribuição do tipo de fratura é dependente do grupo de estudo (p<0,001).

Conclusões: A capacidade de remineralização do esmalte erodido com uma pasta de CPP-ACFP difere da capacidade de remineralização com uma pasta de fluoreto de sódio. As forças de adesão das restaurações diretas a esmalte erodido remineralizado com uma pasta de CPP-ACFP ou fluoreto de sódio são iguais às forças de adesão a esmalte erodido não remineralizado.

Palavras chave: adesão; CPP-ACFP; erosão dentária; remineralização

ABSTRACT

Goals: To evaluate the remineralization capacity of eroded enamel with CPP-ACFP and with sodium fluoride, as well as the influence of prior enamel remineralization on the bond strength of direct restorations.

Materials and Methods: For this *in vitro* study, 40 bovine lower incisors were selected and randomly distributed into 4 groups (n=10) as follows: Er (erosion/artificial saliva), Er-CPP-ACFP (erosion/artificial saliva + CPP-ACFP remineralization), Er-NaF (erosion/artificial saliva+ NaF remineralization) and nEr-NaF (NaF remineralization). Erosion was simulated, in cycles, with the soft drink Sprite[®]. The microhardness was evaluated with the Vickers test at the beginning (t_0), at the end of the first day of erosive protocol (t_1) and at the end of the study (t_2). Subsequently, direct resin composite restorations were adhered to the enamel. After storage in distilled water at 37°C for 24 hours, the restored teeth were cut into sticks, that were tested with the microtensile test to determine the bond strength in MPa. The dependent variables “bond strength” “FA”, “microhardness” “MD” and “type of fracture” were statistically analyzed.

Results: The Er-CPP-ACFP group was the only group able to recover the initial MD after the erosion/remineralization cycles ($p=0,427$). With regard to FA, a statistically significant difference was found only between the Er and nEr-NaF ($p=0,021$), being the remaining groups similar to each other. It was also observed that the fracture type distribution is dependent on the study group ($p<0,001$).

Conclusions: The remineralization capacity of eroded enamel with CPP-ACFP paste differs from the remineralization capacity with sodium fluoride paste. The bond strengths of direct restorations to eroded enamel remineralized with CPP-ACFP paste or sodium fluoride paste are equal to non- remineralized eroded enamel.

Keywords: Adhesion; CPP-ACFP; Dental erosion; Remineralization

Índice Geral:

I. INTRODUÇÃO.....	13
1. NANOCOMPLEXOS FLUORETADOS DERIVADOS DA CASEÍNA (CPP-ACFP).....	14
1.1. Definição:.....	14
1.2. Contexto histórico:.....	15
1.3. Formas de apresentação do CPP-ACFP:.....	16
1.4. Aplicações clínicas:.....	16
1.4.1. Cárie dentária:.....	16
1.4.2. Pós branqueamento:.....	17
1.4.3. Hipersensibilidade dentinária:.....	17
1.4.4. Erosão dentária:.....	17
1.4.5. Outras aplicações:.....	17
2. ESMALTE E A SUA COMPOSIÇÃO.....	18
2.1. Esmalte bovino:.....	19
3. EROSÃO DENTÁRIA.....	20
3.1. Definição:.....	20
3.2. Etiologia:.....	20
3.3. Histologia:.....	20
3.4. Características clínicas:.....	21
3.5. Fatores predisponentes:.....	22
4. TESTE DE MICRODUREZA DE VICKERS.....	23
5. SALIVA.....	24
5.1. Definição:.....	24
5.2. Composição da saliva:.....	24
5.3. Película adquirida:.....	25
5.4. A importância da saliva na prevenção da erosão:.....	26
6. REMINERALIZAÇÃO.....	26

6.1. Definição:.....	26
6.2. Remineralização com fluoreto de sódio:.....	27
6.3. Remineralização com CPP- ACFP :	27
7. ADESÃO.....	28
7.1. Definição:.....	28
7.2. Adesão ao esmalte:.....	28
7.3. Adesão à dentina :	29
7.4. Metodologias de adesão:.....	29
7.4.1. Sistema Etch-and-Rinse:.....	30
7.4.2. Sistema <i>Self-Etch</i> :	31
7.4.3. Sistemas Multi-modo:.....	31
8. RESTAURAÇÕES DIRETAS.....	32
9. TESTE DE MICROTRAÇÃO	34
II. OBJETIVOS	35
1.1. Hipóteses experimentais :	35
1.1.1. Hipóteses nulas :.....	35
1.1.2. Hipóteses alternativas:.....	35
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
1. Recolha e preparação das amostras :.....	37
2. Distribuição das amostras :.....	39
3. Teste de microdureza de Vickers :	41
4. Ciclos de erosão /remineralização :.....	42
4.1. Protocolo de erosão :.....	42
4.2. Protocolo de erosão/remineralização :.....	43
4.3. Protocolo de remineralização :.....	44
5. Confeção das restaurações diretas :.....	44
5.1. Confeção da chave :	44

5.2. Condicionamento do esmalte :.....	44
5.3. Adesão :.....	45
6. Corte das amostras :.....	46
7. Teste de microtração :	46
8. Análise estatística :.....	48
IV. RESULTADOS	49
V. DISCUSSÃO	53
VI. CONCLUSÃO:.....	61
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
VIII. ANEXOS	

Índice de Figuras:

Figura 1- Abordagem terapêutica da erosão dentária.....	14
Figura 2- Imagens obtidas em microscopia de varrimento eletrônico para comparar prismas de esmalte bovino (A) com humano (B).....	20
Figura 3- Lesões de erosão oclusais	21
Figura 4- Lesões de erosão vestibulares severas	21
Figura 5- Fatores de risco para erosão dentária.....	22
Figura 6- Forma tetra-piramidal da ponta diamantada	24
Figura 7- Imagens obtidas de microscopia de transmissão eletrônica para mostrar a capacidade de proteção de uma película adquirida de 2horas (a), após sofrer um ataque ácido.....	25
Figura 8- Classificação dos sistemas adesivos	30
Figura 9- Reabilitação com restaurações indiretas de um paciente com erosão intrínseca..	33
Figura 10- Preparação das amostras para o teste de microtração (μ TBS).....	34
Figura 11- Incisivos de bovino	37
Figura 12- Incisivos de bovino armazenados em cloramina tri-hidratada a 1%	37
Figura 14- Preenchimento da câmara pulpar com resina composta. A- Amostra após o corte/ B- Após o preenchimento da câmara pulpar	38
Figura 15- Polimento das amostras na máquina de polimento rotacional.....	39
Figura 16- Esquema de distribuição das amostras.....	40
Figura 17- Amostras numeradas e distribuídas nos 4 grupos.....	40
Figura 18- Máquina HSV-30 [®]	41

Figura 19- Exemplo das 5 indentações numa amostra (Ampliação 200x)	41
Figura 20- Exemplo de valor de microdureza em <i>VHN (Vickers Hardness Number)</i> ...	41
Figura 21- Esquema dos ciclos de erosão/remineralização para todos os grupos experimentais	42
Figura 22- Solução erosiva <i>Sprite®</i>	42
Figura 23- Pasta de CPP-ACFP	43
Figura 24- Pasta de fluoreto de sódio	43
Figura 25- Saliva artificial (pH=6,3) e a sua composição	43
Figura 26- Chave antes de remover os cilindros de <i>putty</i>	44
Figura 27- Confeção da chave na máquina de vácuo	44
Figura 28- Condicionamento do esmalte com ácido ortofosfórico a 37%	45
Figura 29- <i>Scotchbond™</i> Universal	45
Figura 30- Fotopolimerização do adesivo	45
Figura 31- Resina body <i>Filtek™ Supreme XTE</i> cor A3	45
Figura 32- Amostra com restauração direta	45
Figura 33- Cortes múltiplos das amostras para a formação de palitos	46
Figura 34- Palito no jig de aço inoxidável.....	46
Figura 35- Craveira digital	47
Figura 36- Análise do local de fratura dos palitos através da lupa estereoscópica (Ampliação de 40x) A- Palito sem fratura/ B- Exemplo de fratura adesiva/ C- Exemplo de fratura coesiva na resina/ D- Lupa estereoscópica.....	47
Figura 37- Valores de forças de adesão em MPa de todos os grupos	50
Figura 38- Percentagem de cada tipo de fraturas relativamente ao total de fraturas em todos os grupos (Er; Er-NaF; Er-CPP-ACFP; nEr-NaF)	51

Índice de tabelas:

Tabela 1- Valores de MD relativa para os grupos de estudo em t_0 , t_1 e t_2 . Letras diferentes em sobrescrito indicam diferenças estatisticamente significativas. 49

Lista de Abreviaturas:

CPP-ACFP – Nanocomplexos fluoretados derivados da caseína

CPP- Caseína fosfopeptídica

ACP- Fosfato de cálcio amorfo

VHN- *Vickers Hardness Number*

CAD-CAM- *Computer-Aided Design and Computer-Aided Manufacturing*

10-MDP- 10-metacrilóiloxidecilo dihidrogenofosfato

min – Minuto

s – Segundo

ppm – Partes por milhão

N- Newton

ml- Mililitro

rpm- Rotações por minuto

mm/min- Milímetro por minuto

kN- Kilonewton

MPa- Mega Pascal

MD- Microdureza relativa

FA- Força de adesão

bis-GMA- Bisfenol-A- glicidilmetacrilato

UDMA – Uretano dimetacrilato

bis-EMA- Bisfenol-A- etoxilado dimetacrilato

TEGDMA- Tri(etileno glicol) dimetacrilato

I. INTRODUÇÃO

A erosão dentária é uma condição cada vez mais prevalente na população mundial e consiste na perda de tecido dentário causada por um processo químico que não envolve a presença de bactérias (Buzalaf, Hannas & Kato, 2012; Carvalho et al. , 2015).

Esta condição pode levar ao aparecimento da hipersensibilidade dentinária, graças à exposição da dentina, à perda de dimensão vertical e, ainda a problemas estéticos (Carvalho et al. , 2015; Gierthmuehlen & Steger, 2016).

Em lesões iniciais é possível recorrer a uma abordagem preventiva, através de medidas que reduzam o tempo de contacto direto dos ácidos com a superfície dentária, que diminuam a frequência do consumo dos alimentos e bebidas erosivas, e que promovam o aumento da resistência à dissolução acídica. Esta última é conseguida através da remineralização dentária, que permite reverter o processo de desmineralização através da presença de iões cálcio, fosfato e flúor em sobresaturação em relação à hidroxiapatite (Alencar et al. , 2014; Carvalho et al. , 2015). Esta remineralização pode ser obtida, por exemplo, através do fluoreto de sódio e dos nanocomplexos fluoretados derivados da caseína (CPP-ACFP).

No entanto, em lesões severas pode ser necessário recorrer a um tratamento restaurador. Nestes casos, com a perda substancial de esmalte, ocorre a exposição de dentina permeável que se encontra parcialmente desmineralizada, graças ao efeito acídico crónico. Assim, apesar do *gold-standard* da adesão ser o *etch-and-rinse* de três passos, há autores que recomendam neste tipo de reabilitações recorrer a sistemas *self-etch*, de dois passos (Colon & Lussi, 2014).

Além disso, em lesões de erosão severas pode ocorrer o aparecimento da dentina esclerótica, que consiste numa camada superficial hipermineralizada brilhante, que reduz a eficácia dos adesivos dentários, influenciando o tratamento restaurador. Quanto à adesão ao esmalte erodido, ainda não existe informação sobre a existência de diferenças na eficácia dos adesivos dentários entre este esmalte e o esmalte não erodido (Attin & Wegehaupt, 2014), pelo que é necessário a realização de mais estudos sobre este assunto.

Em suma, na abordagem de lesões de erosão o melhor plano de tratamento envolve a combinação de medidas de prevenção e interceção, através da aplicação de agentes remineralizantes, e quando necessário uma abordagem restauradora, como está ilustrado na figura 1 (Attin & Wegehaupt, 2014; Colon & Lussi, 2014). No presente estudo, serão abordados diversos temas, nomeadamente a erosão dentária, a adesão e a remineralização, na qual será dado um principal destaque aos CPP-ACFP que serão aprofundados no próximo capítulo.

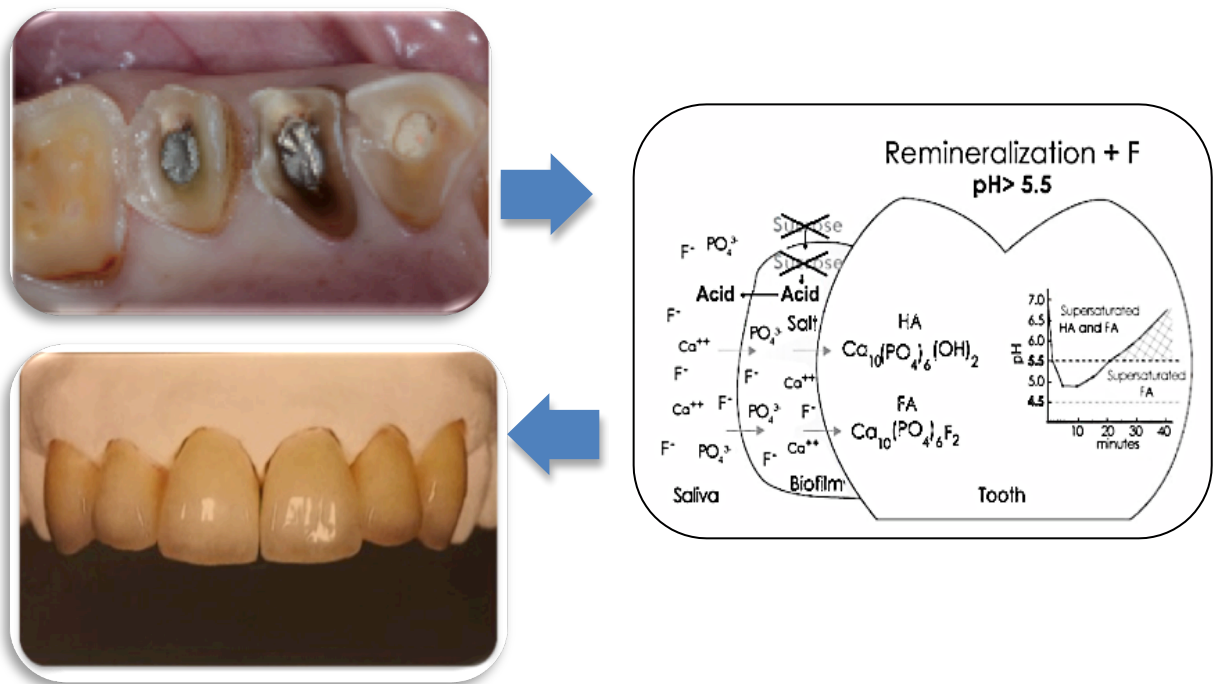


Figura 1- Abordagem terapêutica da erosão dentária (Adaptado de Colon & Lussi, 2014; Magne & Belser, 2003; Naveena, Nagarathana & Sakunthala, 2014).

1. NANOCOMPLEXOS FLUORETADOS DERIVADOS DA CASEÍNA (CPP-ACFP)

1.1. Definição:

Os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína apresentam a capacidade de remineralização de lesões de esmalte superficiais (Cochrane, Saranathan, Cai, Cross & Reynolds, 2008).

Estes nanocomplexos são constituídos pela caseína fosfopeptídica (CPP) que pode ser extraída enzimaticamente do leite, e por iões de flúor, fosfato e cálcio em solução aquosa (Wiegand & Attin, 2014).

A caseína fosfopeptídica permite a estabilização de grandes concentrações de cálcio, fosfato e flúor, o que confere a capacidade de remineralização destes nanocomplexos (Wiegand & Attin, 2014).

1.2. Contexto histórico:

O fosfato de cálcio amorfo (ACP) consiste na fase inicial sólida, que resulta da precipitação de uma solução supersaturada de fosfato de cálcio e que pode converter-se em fases cristalinas, como o fosfato de octacálcio (Posner, 1963, como referido em Divyapriya, Puja & Veeresh, 2016). No entanto, o ACP não apresenta estabilidade, pelo que em boca converte-se rapidamente em fases cristalinas, podendo contribuir para a formação do cálculo dentário (Divyapriya et al. , 2016).

A caseína fosfopeptídica (CPP) foi desenvolvida por Reynolds (1991), na Universidade de Melbourne, que verificou que a digestão triptica da proteína do leite, caseína, quando agregada a fosfato de cálcio e após ser purificada por ultrafiltração, resultava na formação de caseína fosfopeptídica (CPP). A CPP possui a sequência Ser (P)- Ser (P) – Glu – Glu da caseína (Cross, Huq & Reynolds, 2007; Divyapriya et al. , 2016).

Através dos múltiplos resíduos fosfoserina, a caseína fosfopeptídica liga-se aos *nanoclusters* de ACP em soluções supersaturadas, evitando assim o crescimento até à fase crítica e consecutivamente a sua precipitação. Desta forma, a caseína fosfopeptídica permite a estabilização do fosfato de cálcio amorfo (Divyapriya et al. , 2016).

A combinação do CPP-ACP com flúor tem como vantagem aliar a disponibilidade dos iões flúor, aos iões cálcio e fosfato, já existentes no CPP-ACP. Desta maneira, possibilita uma melhoria na remineralização, como foi concluído num estudo de comparação da remineralização entre o CPP-ACP e o CPP-ACFP com 900 ppm de flúor (Divyapriya et al. , 2016; Srinivasan, Kavitha & Loganathan, 2010).

1.3. Formas de apresentação do CPP-ACFP:

Os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína foram introduzidos no mercado pela Universidade de *Melbourne*, pela *Victorian Dairy Industry Authority* e ainda pela *Abbotsford* e a *Bonlac Foods Limited*, na Austrália. Os CPP-ACFP apresentam diferentes formas de apresentação, tais como: pastilha elástica, colutório, gel tópico, dentífrico e ainda em bebidas energéticas (Divyapriva et al. , 2016).

Os CPP-ACFP apresentam contra-indicações, como o uso em pacientes que apresentem alergia à proteína do leite, dado que este produto é derivado do leite (Divyapriva et al. , 2016).

1.4. Aplicações clínicas:

1.4.1. Cárie dentária:

A cárie dentária é uma doença oral de alta prevalência, que consiste na desmineralização progressiva do tecido dentário, que ocorre com o metabolismo dos hidratos de carbono realizado pelos microorganismos da placa bacteriana (Llena, Leyda & Forner, 2015).

A remineralização das lesões de cárie requer uma terapia prolongada. Os agentes de remineralização terão de ser aplicados periodicamente, ter uma duração prolongada ou apresentarem uma alta substantividade, que consiste na capacidade de um agente permanecer na cavidade oral e de se libertar lentamente, mantendo os níveis terapêuticos. Neste caso, é conseguida através das interações entre as proteínas salivares que constituem a película adquirida dentária e a caseína fosfopeptídica (Cross et al. , 2007; Sala & García, 2013).

Os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína apresentam ainda um potencial anticariogénico, graças à inibição da adesão das bactérias, tais como a *Streptococcus mutans* e a *Streptococcus sobrinus*. Desta forma, neutralizam e favorecem a remineralização. Além disso, as concentrações extracelulares de cálcio livre, apresentam propriedades bacteriostáticas e bactericidas, que inibem a adesão entre as células bacterianas (Divyapriva et al. , 2016).

1.4.2. Pós branqueamento:

O branqueamento dentário com peróxido de carbamida pode ter vários efeitos adversos na estrutura dentária tal como, a diminuição da microdureza do esmalte. Se esta for acompanhada pelo consumo de bebidas como o chá ou o vinho pode levar, com uma maior frequência, ao aparecimento de manchas na superfície de esmalte branqueado (Moosavi & Darvishzadeh, 2016).

Para evitar o aparecimento de manchas após o branqueamento dentário, pode-se proceder à aplicação de nanocomplexos fluoretados derivados da caseína, que remineralizam o esmalte permitindo uma melhor estabilização da cor (Reema, Lahiri & Roy, 2014).

1.4.3. Hipersensibilidade dentinária:

A hipersensibilidade está associada à exposição dos túbulos dentinários e é caracterizada por uma dor aguda de curta duração como resposta a um estímulo térmico, mecânico, químico ou osmótico, não associada a nenhuma patologia (Mahesuti, Duan, Wang, Cheng & Matis, 2014).

Os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína são eficazes no tratamento da hipersensibilidade dentinária, dado que ocluem os túbulos dentinários expostos (Reema et al. , 2014).

1.4.4. Erosão dentária:

A erosão dentária é causada pelo contacto direto com ácidos extrínsecos ou intrínsecos a pH baixo, porém é modificada por factores biológicos e comportamentais (Wiegand & Attin, 2014).

Os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína proporcionam altas concentrações de cálcio, fosfato e flúor, o que possibilita retardar a perda do tecido dentário e favorecer a remineralização das lesões de erosão (Wiegand & Attin, 2014).

1.4.5. Outras aplicações:

Os CPP-ACFP podem ser incorporados no cimento de ionómero de vidro proporcionando uma melhor restauração, devido à melhoria do potencial anticariogénico (Reema et al. , 2014).

Além disso, podem ser também adicionados aos selantes de resina, permitindo uma maior capacidade de remineralização das lesões de esmalte subsuperficiais, possibilitada por uma sobresaturação dos íons cálcio e fosfato que favorecem a formação dos cristais de hidroxiapatite (Reema et al. , 2014).

De forma a facilitar a compreensão do mecanismo envolvido no processo de remineralização do esmalte, da qual fazem parte os cristais de hidroxiapatite, será descrita mais aprofundadamente a sua composição no próximo capítulo.

2. ESMALTE E A SUA COMPOSIÇÃO

O esmalte constitui a camada externa da coroa do dente, onde ocorrem constantes mudanças, devido aos processos de desmineralização e remineralização (Jayasudha, Baswaraj, Navin & Prasanna, 2014).

O esmalte é constituído por uma parte inorgânica, cerca de 96%, de cristais de hidroxiapatite e por uma parte orgânica formada por água e pelos produtos derivados da amelogenina, correspondendo a 4% da sua composição. Os cristais de hidroxiapatite no esmalte, encontram-se organizados numa microestrutura, e compõem os prismas de esmalte que possuem um diâmetro de 3-5 µm (Jayasudha et al. , 2014; Miyazaki et al. , 2014). Estes prismas encontram-se rodeados pela substância interprismática, que apresenta uma orientação diferente dos cristais de hidroxiapatite, e conseqüentemente uma maior susceptibilidade à dissolução ácida. Na erosão dentária, o ião hidrogénio (H^+) do ácido atinge a superfície dentária e promove a dissolução ácida, que se inicia no esmalte interprismático, atingindo posteriormente o esmalte intraprisma, conferindo o padrão de favo de mel (Heymann, Swift, & Ritter, 2013 ; Lussi & Jaeggi, 2008).

Os cristais de hidroxiapatite podem ser representados pela seguinte fórmula química, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, sendo constituídos por íons cálcio (Ca^{2+}), fosfato (PO_4^{3-}) e hidróxido (OH^-). Estes íons podem ser libertados para a solução envolvente, processo conhecido por dissolução e por outro lado podem migrar da solução para contribuírem para o crescimento dos cristais de hidroxiapatite. O equilíbrio entre a taxa de dissolução e taxa de crescimento dos cristais, é conseguido quando a solução está saturada em íons cálcio e fosfato em relação à hidroxiapatite. Em caso de erosão dentária, ocorre um aumento da taxa de dissolução e uma diminuição da taxa de crescimento dos cristais,

dado que a solução, neste caso a saliva, encontra-se insaturada em relação à hidroxiapatite. Pelo contrário, na remineralização dentária o crescimento dos cristais é favorecido, dado que a solução é sobressaturada em íons cálcio e fosfato em relação à hidroxiapatite (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

O mecanismo de formação do esmalte ainda não é totalmente conhecido, porém sabe-se que a amelogenina tem um importante papel no crescimento por alongamento dos cristais de hidroxiapatite (Kwak, Litman, Margolis, Yamakoshi & Simmer, 2017).

O esmalte maduro, ao contrário de outros tecidos mineralizados como a dentina e o osso, é acelular e não apresenta capacidade de auto-regeneração (Jayasudha et al. , 2014).

2.1. Esmalte bovino:

Na maioria dos estudos *in vitro* de materiais dentários, são utilizados dentes humanos extraídos. Porém, estes apresentam algumas limitações, tais como: a dificuldade de obtenção de dentes em quantidade suficiente e em boa qualidade, dado que muitos apresentam cáries extensas. Além disso, a dificuldade de homogeneidade da amostra, o risco de infecção e questões éticas levam também à restrição do seu uso (Teruel, Alcolea, Hernández & Ruiz, 2015).

Assim, começaram a surgir substratos alternativos de outros mamíferos, tais como primatas, ovinos, suínos e bovinos. O principal critério de escolha do substrato está relacionado com uma maior semelhança da estrutura físico-química e das características biológicas com o dente humano (Teruel et al. , 2015).

O esmalte bovino é o substituto de eleição do esmalte humano em investigações *in vitro*, visto que apresenta uma estrutura química mais semelhante (Teruel et al. , 2015).

No entanto, o esmalte bovino é mais poroso, frágil e apresenta um menor conteúdo mineral que o esmalte humano. Além disso, o esmalte bovino apresenta um menor conteúdo de esmalte interprismático e uma melhor definição dos prismas de esmalte, comparativamente com o esmalte humano, como pode ser observado na figura 2 (Fonseca et al. , 2008; Rios et al. , 2006).

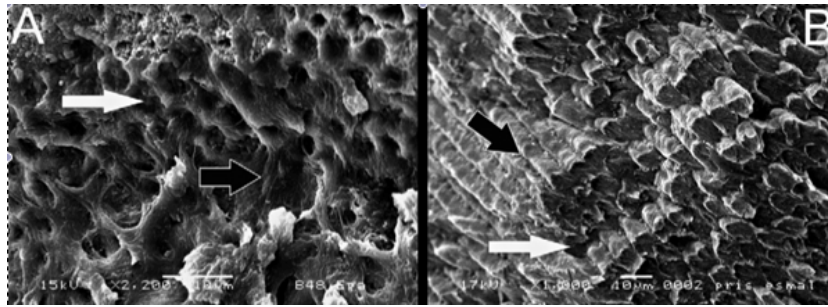


Figura 2- Imagens obtidas em microscopia de varrimento eletrônico para comparar prismas de esmalte bovino (A) com humano (B) (Adaptado de Fonseca et al., 2008).

Porém, o esmalte bovino pode ser utilizado em estudos de erosão e abrasão, sem se encontrarem diferenças absolutas relevantes (Wiegand & Attin, 2011).

3. EROSÃO DENTÁRIA

3.1. Definição:

A erosão dentária é definida como a perda de tecido dentário, causada por um processo químico que não envolve a presença de bactérias (Buzalaf et al., 2012).

3.2. Etiologia:

A erosão dentária pode ser classificada como intrínseca ou extrínseca de acordo com o seu fator etiológico. A erosão intrínseca, encontra-se relacionada com condições patológicas, tais como: anorexia, bulimia e refluxo gastroesofágico, em que o ácido gástrico é o principal fator etiológico. A erosão extrínseca está associada à dieta, ou melhor, ao aumento do consumo de bebidas desportivas e sumos, como por exemplo limonadas. Além disso, encontra-se também relacionada com o consumo de medicamentos, como os broncodilatadores, que possuem um pH baixo, os suplementos de ferro, a vitamina C e o ácido acetilsalicílico. Sendo também importante realçar os fatores ambientais, como a exposição prolongada à água da piscina incorretamente tratada, no caso dos nadadores profissionais, ou a exposição ao ácido sulfúrico em indivíduos envolvidos na área da microbiologia (Hannig et al., 2007; Sala & García, 2013).

3.3. Histologia:

A desmineralização do esmalte, provocada por erosão, é um processo centrípeto que promove a perda parcial dos minerais, presentes na superfície dentária. Com a

progressão dos ataques erosivos, ocorre a perda massiva de minerais, enquanto que a superfície restante, continua a apresentar uma desmineralização parcial. Esta desmineralização parcial, conduz à diminuição da microdureza, formando a *softened layer*. Esta camada, apresenta uma espessura de 2-5 μm e persiste em erosões severas, conseguindo manter a sua espessura e microdureza estáveis. Porém, a softened layer apresenta uma alta susceptibilidade à abrasão, como por exemplo na escovagem dentária, que pode provocar a perda do tecido dentário desmineralizado superficial (Attin, 2006; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011).

3.4. Características clínicas:

Clinicamente, as lesões de erosão são arredondadas e lisas e encontram-se localizadas coronalmente em relação à junção amelocimentária, como pode ser observado nas figuras 3 e 4 (Ganss & Lussi, 2014).



Figura 3- Lesões de erosão oclusais (Adaptado de Ganss & Lussi, 2014)



Figura 4 – Lesões de erosão vestibulares severas (Adaptado de Ganss & Lussi, 2014)

Além disso, estas lesões nos dentes posteriores são caracterizadas por defeitos côncavos e quando severas, em dentes com restaurações a amálgama, caracterizam –se pelo aparecimento das chamadas *amalgam islands* (Hilton, Ferracane & Broome, 2013).

A localização destas lesões por vezes facilita o clínico na determinação do seu fator etiológico. Lesões nas superfícies palatinas dos dentes do maxilar superior e nas superfícies oclusais dos dentes posteriores, são indicativas de ter como fator etiológico, o ácido gástrico. Lesões em forma de meia lua ou arredondadas nas faces vestibulares, são características de ter como fator etiológico, agentes ácidos exógenos, como por exemplo a limonada (Heymann et al. , 2013; Hilton et al. , 2013).

3.5. Fatores predisponentes:

Na erosão dentária existem vários fatores predisponentes: fatores químicos, biológicos e comportamentais, que se interrelacionam, como se encontra ilustrado na figura 5. Dos fatores químicos, é importante realçar o conteúdo dos alimentos em iões cálcio e fosfato, que dificultam a dissolução ácida. A saliva, é um fator biológico muito importante dado que promove mecanismos de defesa contra a erosão, que se encontram descritos aprofundadamente na secção 4.4.. Por fim, dos fatores comportamentais, é importante destacar o consumo excessivo de bebidas e alimentos ácidos, que ocorre atualmente (Lussi & Jaeggi, 2008).

A compreensão destes fatores permite adoptar medidas preventivas, e também medidas terapêuticas (Lussi & Jaeggi, 2008).

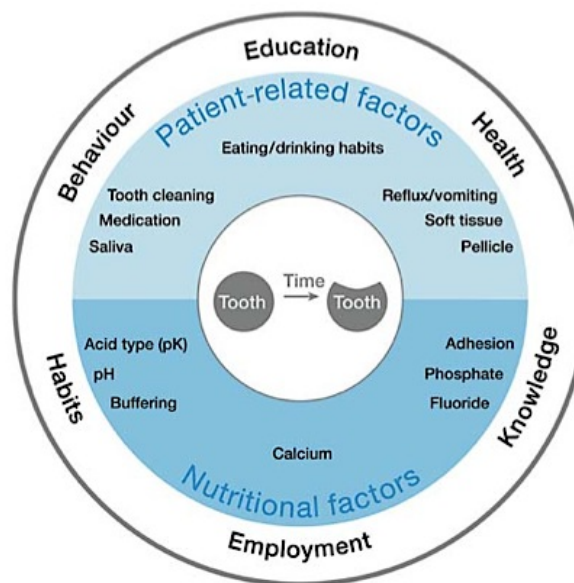


Figura 5- Fatores de risco para erosão dentária (Adaptado de Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011).

Contudo, é de salientar que as lesões de desgaste, ou desgaste erosivo, são de uma forma geral de origem multifatorial, resultando não só da erosão dentária, mas de uma combinação de vários fatores: erosão, abrasão e atrição (Hilton et al. , 2013).

Para avaliar o desgaste dentário *ex vivo*, é essencial recorrer à determinação das alterações micromorfológicas do esmalte, causadas pela erosão ou pela erosão em combinação com a abrasão. A fim de, determinar estas alterações é necessário utilizar métodos tais como, a microscopia de força atómica (AFM), a rugosidade microrradiográfica, a microscopia eletrónica de varrimento (SEM), a profilometria de superfície e por fim, a análise da microdureza (Passos & Santiago, 2014).

Este último método, será aprofundado no próximo capítulo dado que foi a técnica utilizada no presente estudo.

4. TESTE DE MICRODUREZA DE VICKERS

A microdureza consiste no valor de resistência do esmalte ou da dentina contra a deformação plástica, podendo ser utilizada para a determinação das alterações micromorfológicas do esmalte após a erosão (Passos & Santiago, 2014).

Desta forma, é possível recorrer a testes de microdureza, que se baseiam na realização de uma indentação na superfície dentária, cujo diâmetro corresponde ao valor da microdureza. Este método apresenta vantagens tais como: o baixo custo e o facto de ser uma técnica não destrutiva (Passos & Santiago, 2014).

O teste de Vickers é um exemplo de teste de microdureza, tendo como principal característica a ponta diamantada com forma tetra-piramidal (Fig. 6). Neste caso, a determinação da microdureza, é realizada através da obtenção da média das medidas das diagonais da indentação, de base quadrada. O VHN (*Vickers Hardness Number*), é obtido através do quociente entre o produto da constante (1,854), com a força da indentação (kgF) e o quadrado da média aritmética das diagonais (mm), D1 e D2 da indentação (O'Brien, 2008; Passos & Santiago, 2014).

$$VHN = \frac{1,854 \times \text{Força da indentação}}{(\text{Média aritmética das diagonais})^2}$$

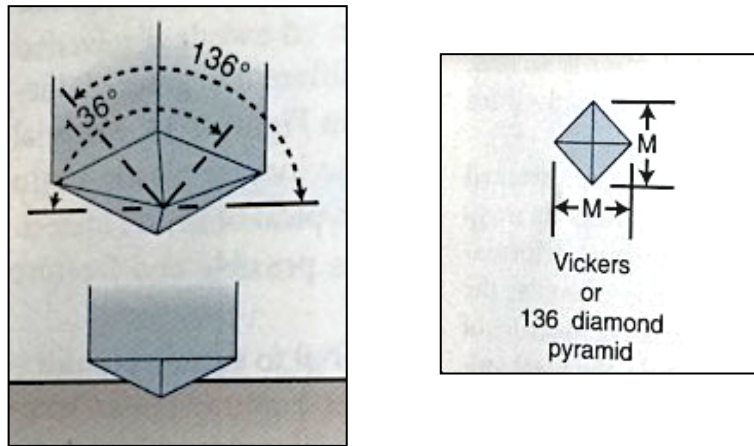


Figura 6- Forma tetra-piramidal da ponta diamantada (Adaptado de Anausavice, Shen & Rawls, 2013).

Os estudos *ex vivo*, tendem a obter um valor de desgaste dentário aumentado, devido à ausência de fatores biológicos modificadores como a saliva, que apresenta um papel fulcral na prevenção da erosão dentária (Wiegand & Attin, 2011), e como tal será descrita mais aprofundadamente no próximo capítulo.

5. SALIVA

5.1. Definição:

A saliva é um fluido relativamente viscoso que cobre todas as superfícies da cavidade oral, à exceção do sulco gengival. É secretada pelas glândulas major (parótida, submandibular e sublingual) e por numerosas glândulas minor, apresentando duas componentes: orgânica e inorgânica (Buzalaf et al. , 2012; Sala & García, 2013).

5.2. Composição da saliva:

Na componente inorgânica da saliva, é de realçar a importância do bicarbonato, que confere a sua capacidade tampão, e ainda os iões cálcio e fosfato que permitem a manutenção do equilíbrio entre os processos de desmineralização/ remineralização (Buzalaf et al. , 2012).

A componente orgânica é formada por hidratos de carbono e lípidos, em menor quantidade, e ainda proteínas, glicoproteínas e péptidos. É de salientar a importância das mucinas salivares, que contribuem muito significativamente para a proteção do esmalte

contra a erosão dentária. As mucinas são glicoproteínas, que atuam como aglutininas naturais, dado que possuem recetores para múltiplos microorganismos. Além disso, ligam-se a toxinas e ainda, interagem com as células hospedeiras (Buzalaf et al. , 2012; Sala & García, 2013). Em casos de atrição, as mucinas apresentam um papel crucial, dado que diminuem as forças de fricção, revestindo as superfícies de desgaste e as partículas resultantes da atrição e atuando deste modo como lubrificantes (Shellis & Addy, 2014).

5.3. Película adquirida:

A película adquirida, é um biofilme que cobre os tecidos moles e duros da cavidade oral e não possui bactérias, formando-se poucos minutos após a escovagem dentária. Esta película salivar, tem origem no contacto da saliva com o esmalte e é formada por duas camadas: uma camada basal mais densa e uma camada globular mais complexa e heterogénea. Em primeiro lugar, as proteínas e os péptidos aderem à superfície do esmalte dentário, formando a camada basal. De seguida, ocorre a adsorção de mais proteínas, através de interações proteicas, o que conduz à formação da camada globular (Carvalho, Baumann & Lussi, 2016; Lussi & Jaeggi, 2008 ; Sala & García, 2013).

A presença desta película apresenta um papel fundamental na prevenção da erosão dentária, dado que previne o contacto direto entre o ácido e a superfície dentária, como pode ser observado na figura 7 (Carvalho et al. , 2016; Hara & Zero, 2014).

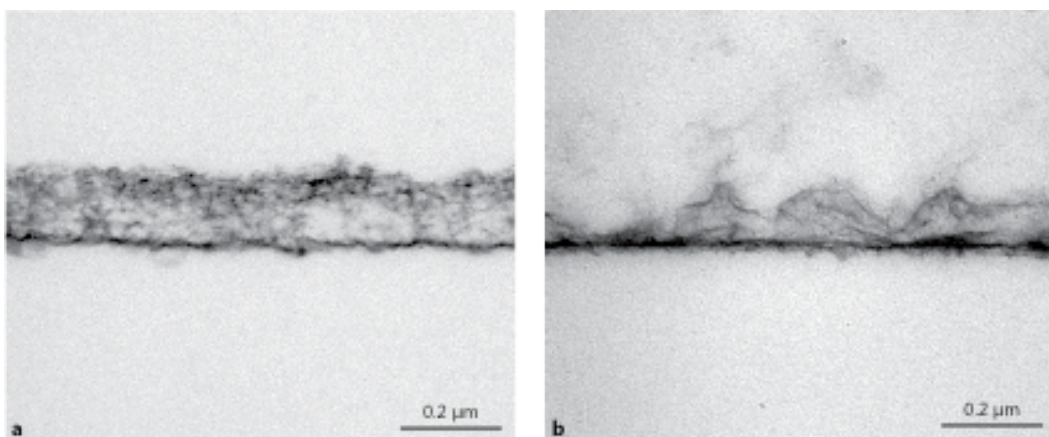


Figura 7- Imagens obtidas de microscopia de transmissão eletrónica para mostrar a capacidade de proteção de uma película adquirida de 2 horas (a), após sofrer um ataque ácido. Na imagem b podemos observar uma dissolução parcial, mas não total da película adquirida (Adaptado de Hara & Zero, 2014).

5.4. A importância da saliva na prevenção da erosão:

A saliva é o fator biológico mais importante na prevenção da erosão dentária, dado que possui a capacidade de neutralizar diretamente o agente erosivo, possibilita a formação da película adquirida, e ainda a redução da desmineralização saturando o meio em íons cálcio, fosfato e flúor, íons estes que estarão também disponíveis para a remineralização do esmalte e dentina erodidos (Hara & Zero, 2014).

A saliva possui assim, a capacidade de atuar em três diferentes fases: antes da erosão, durante a erosão e após a erosão. Antes da erosão, poderá ocorrer o aumento da taxa de fluxo salivar através de estímulos extra-orais, como por exemplo o odor e a visão, facilitando a neutralização do agente erosivo. Durante a erosão, verifica-se não só o aparecimento de estímulos como a mastigação, que também irão contribuir para a neutralização dos agentes erosivos, mas também a proteção da superfície dentária que é conferida pela película adquirida e a saturação do meio com íons reduzindo a desmineralização, como explicado anteriormente. Por fim, após a erosão, a saliva é responsável principalmente pela remineralização do esmalte erodido, através do íons cálcio e fosfato, e ainda pelos íons flúor que possibilitam um aumento substancial do efeito anti-erosivo (Hara & Zero, 2014).

6. REMINERALIZAÇÃO

6.1. Definição:

A remineralização dentária é um processo que requer a presença de cristais de hidroxiapatite parcialmente desmineralizados, que na presença de soluções sobresaturadas em relação à apatite, são capazes de crescer em tamanho (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

O conhecimento dos mecanismos de remineralização/desmineralização é essencial para o desenvolvimento de novas terapias, capazes de reverter o processo de desmineralização (Neel et al. , 2016).

6.2. Remineralização com fluoreto de sódio:

O fluoreto de sódio contém íons de flúor, que substituem os grupos hidroxilo nos cristais de hidroxiapatite, formando cristais de fluorapatite. Estes cristais apresentam uma menor solubilidade do que a hidroxiapatite, reduzindo a taxa de dissolução em ácidos (Shellis et al. , 2014).

Além disso, o flúor influencia o crescimento dos cristais e a precipitação, nomeadamente através da aceleração da transformação de intermediários, como o fosfato de octacálcio. Desta forma, o flúor apresenta um papel importante na remineralização de lesões erosivas (Shellis et al. , 2014).

No entanto, em investigações já realizadas foi demonstrado que o fluoreto de sódio apresenta um efeito anti-erosivo limitado, tal como outros compostos fluoretados monovalentes (Huysmans, Young & Ganss, 2014 ; Oliveira, Scaramucci, Nogueira, Simões & Sobral, 2015).

6.3. Remineralização com CPP- ACFP :

Tal como foi explicado anteriormente nesta tese, os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína são constituídos pela caseína fosfopeptídica (CPP) e por complexos amorfos de cálcio, fosfato e flúor (ACFP). A caseína, derivada do leite, tem como principal função, garantir a biodisponibilidade dos íons cálcio, fosfato e flúor. A presença destes íons em sobresaturação é essencial para garantir a prevenção da desmineralização e o aumento do processo de remineralização dentária (Alencar et al. , 2014).

Porém a sua capacidade remineralizante e preventiva em erosão dentária, apresenta resultados controversos, dado que alguns estudos demonstraram em análises microscópicas um efeito anti-erosivo, através da formação de agregados e/ou precipitados na superfície dentária, enquanto que outros estudos não demonstraram nenhum efeito remineralizante, nem preventivo (Wiegand & Attin, 2014).

Um dos estudos que demonstrou um efeito anti-erosivo comparou três grupos: água (controlo), *pronamel* (flúor) e *tooth mousse* (CPP-ACP), submetidos a um ciclo de erosão/ remineralização, composto por um período de remineralização de 15 minutos e por um período de erosão com uma solução de ácido cítrico a 0,2% durante 1 hora. Sendo posteriormente efetuada a medição do esmalte perdido através de profilometria.

Verificou-se, uma diminuição da erosão do esmalte nos grupos *pronamel* e *tooth mousse* (CPP-ACP) estatisticamente significativa comparativamente com o grupo de controlo. Porém não foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos *pronamel* e *tooth mousse* (Rees, Loyn & Chadwick, 2007).

Por outro lado, um dos estudos que não demonstrou nenhum efeito remineralizante comparou cinco grupos: controlo (sem tratamento); CPP-ACP, Fluoreto de sódio; CPP-ACP com flúor; Fluoreto de amina. Estes foram sujeitos a seis ciclos de erosão por dia com uma solução de ácido cítrico a 1% durante 30 segundos e a dois períodos de remineralização por dia durante 120 s, com o respetivo agente remineralizante, em saliva artificial. Posteriormente foram obtidos os valores de esmalte dentário perdido com recurso à profilometria após 7 e 14 dias. Em termos de resultados, o fluoreto de amina, apresentou o valor mais baixo de perda de esmalte dentário, não havendo diferenças estaticamente significativas entre os restantes grupos (Lennon et al. , 2006).

Além da capacidade de remineralização dos agentes remineralizantes, é também essencial investigar a influência que estes agentes poderão ter na adesão, uma vez que em alguns casos se tem também de intervir com restaurações adesivas. Este tema será abordado mais aprofundadamente no próximo capítulo.

7. ADESÃO

7.1. Definição:

A adesão está intimamente relacionada com as interações moleculares presentes na interface entre os materiais envolvidos, podendo ser física, química ou mecânica. Para que a adesão ocorra é essencial a presença de três elementos: o aderente, o adesivo e uma ou mais interfaces (Marshall, Bayne, Baier, Tomsia & Marshall, 2010).

7.2. Adesão ao esmalte:

Tal como descrito anteriormente na secção 2, o esmalte é constituído por cristais de hidroxiapatite, organizados numa microestrutura que permite o ataque ácido (Miyazaki et al. , 2014).

Após o ataque ácido, as superfícies do esmalte podem apresentar três tipos de padrões: o tipo 1, em que a dissolução ocorre preferencialmente nos núcleos dos prismas de esmalte, o tipo 2, no qual a dissolução ocorre principalmente na periferia dos prismas e por fim, o tipo 3, em que a dissolução é aleatória. Em 1970, os tipos 1 e 2 eram considerados os padrões de ataque ácido ideais, conferindo uma melhor união micromecânica. Enquanto que, atualmente segundo estudos clínicos morfológicos, foi demonstrado que o padrão ideal ocupa apenas uma pequena proporção relativamente à área de esmalte que sofreu o ataque ácido. Desta forma, verificou-se que o padrão ideal de ataque ácido, observado em laboratório, possivelmente não apresenta relevância clínica (Zhu, Tang, Matinlinna & Hägg, 2014).

O uso do ácido ortofosfórico, possibilita o aumento da energia de superfície, a criação de microporosidades, que promovem a retenção mecânica, e também a desmineralização dos cristais de hidroxiapatite. De seguida, os monómeros de resina irão penetrar nas microporosidades, permitindo uma união micromecânica (Miyazaki et al., 2014).

7.3. Adesão à dentina :

Ao contrário da adesão ao esmalte, a adesão à dentina continua a ser um desafio, devido às suas características biológicas tais como: o alto conteúdo orgânico, a estrutura tubular constituída pelos processos odontoblásticos e a constante humidade gerada pelo fluido dentinário, pela pressão intratubular e a permeabilidade dentinária. Esta última é reduzida após a formação da *smear layer* que preenche os orifícios dos tubúlos dentinários, criando *smear plugs* (Manuja, Nagpal & Pandit, 2012).

O uso do ácido ortofosfórico na dentina leva à remoção da *smear layer*, à desmineralização de 3 a 5 μm de dentina superficial e ainda, à criação de uma forma em funil dos túbulos dentinários. Esta última, é possível graças à presença de um maior conteúdo mineral na dentina peritubular do que na dentina intratubular. Este ataque ácido confere à dentina uma estrutura porosa, que possibilita a infiltração dos componentes adesivos (Hilton et al., 2013).

7.4. Metodologias de adesão:

Os diferentes sistemas adesivos são classificados de acordo com a forma como interagem com a *smear layer* e podem ser observados na figura 8. A *smear layer* resulta

da instrumentação da superfície dentária com instrumentos mecânicos ou manuais, sendo constituída essencialmente por hidroxiapatite e colagénio desnaturado (Miyazaki et al. , 2014).

Enquanto que, os sistemas *Etch-and-Rinse* removem a *smear layer*, os sistemas *Self-Etch* apenas dissolvem a *smear layer* (Marshall et al. , 2010; Miyazaki et al. , 2014).

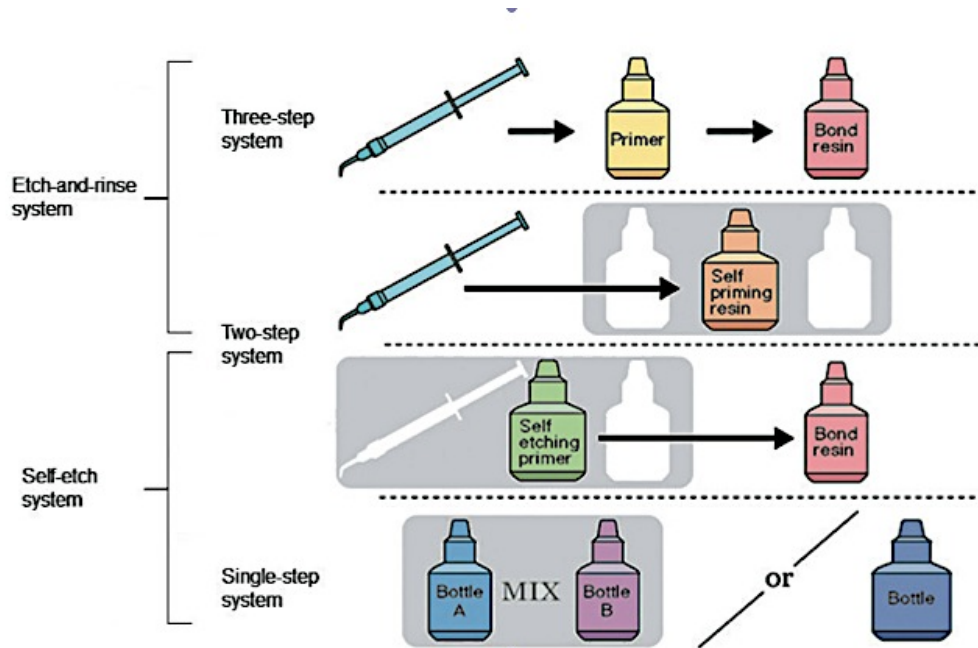


Figura 8- Classificação dos sistemas adesivos (Adaptado de Miyazaki, Tsujimoto, Tsubota, Takamizawa, Kurokawa & Platt, 2014).

7.4.1. Sistema *Etch-and-Rinse*:

O sistema *Etch-and-Rinse* pode ser dividido em sistemas de dois e três passos. Nos sistemas de três passos, o ácido, o *primer* e o *bond* são aplicados separadamente, enquanto que nos sistemas de 2 passos, o *primer* e o *bond* são aplicados apenas num passo, o que permite uma simplificação da técnica e uma diminuição do número de passos clínicos (Miyazaki et al. , 2014).

Em primeiro lugar, é efetuado o condicionamento ácido com ácido ortofosfórico, que na dentina, conduz à desmineralização dos cristais de hidroxiapatite e consequentemente ao colapso das fibras de colagénio, o que aumenta a permeabilidade dentinária. De seguida, os monómeros de resina penetram nas fibras de colagénio e

preenchem os espaços resultantes da desmineralização da hidroxiapatite. Por fim, os monómeros de resina são polimerizados resultando na formação da camada híbrida (Miyazaki et al. , 2014).

Atualmente, o sistema *Etch-and-Rinse* de 3 passos continua a ser considerado o “*gold-standard*” da adesão, graças ao ataque ácido com ácido ortofosfórico e à penetração no substrato dentinário (Miyazaki et al. , 2014; Van Meerbeek et al. , 2010).

7.4.2. Sistema *Self-Etch*:

O sistema *Self-Etch*, pode ser dividido em dois passos ou num passo. No primeiro, o *primer* e o *bond* são aplicados separadamente, enquanto que no segundo, são aplicados simultaneamente. A utilização do *primer* (hidrofílico) e do *bond* (resina hidrofóbica) em dois passos, torna a interface mais hidrofóbica, o que irá permitir um melhor selamento e conseqüentemente uma maior durabilidade (Van Meerbeek et al. , 2010).

Ao contrário do sistema *Etch-and-Rinse*, no sistema *Self-Etch* é dispensada a etapa do ataque ácido, dado que estes sistemas possuem monómeros ácidos funcionais, ou seja, o ácido encontra-se incorporado no *primer*. Estes monómeros ácidos, dissolvem a *smear layer*, criando uma zona interdifusa fina e conseqüentemente uma verdadeira camada híbrida (Miyazaki et al. , 2014).

Além disso, alguns *Self-Etch* apresentam o monómero 10-MDP (10-metacriloiloxidecil dihidrogenofosfato), que permite uma ligação química potencial ao cálcio da hidroxiapatite residual. Possibilitando assim, uma maior resistência à degradação hidrolítica e um melhor selamento das margens da restauração (Manuja et al. , 2012).

No sistema *Self-Etch*, verificou-se não só uma diminuição da sensibilidade pós-operatória mas também da sensibilidade técnica, o que resulta num melhor desempenho clínico (Miyazaki et al. , 2014).

7.4.3. Sistemas Multi-modo:

Os sistemas multi-modo são considerados sistemas adesivos de última geração, dado que aliam o conceito de “*all-in-one*” do *self-etch* de um passo, com a versatilidade

de adaptação a diferentes situações clínicas, dado que podem ser utilizados como *self-etch* ou *etch-and-rinse*. Além disso, estes sistemas podem ser usados como silanos em cerâmicas e restaurações indiretas em compósito, e ainda como *primers* em ligas metálicas e em óxido de zircónia (Vermelho, Reis, Ambrosano & Giannini, 2017; Wagner, Wendler, Petschelt, Belli & Lohbauer, 2014).

Estes sistemas possuem monómeros de 10-MDP, que permitem não só a união química aos cristais de hidroxiapatite, mas também a formação de *nanolayers* com propriedades hidrofóbicas, que protegem a camada híbrida da degradação hidrolítica (Wagner et al. , 2014).

Além disso, alguns destes sistemas, como por exemplo o *Scotchbond*TM Universal, apresentam ainda um copolímero de ácido polialquenóico, que também promove uma ligação química aos cristais de hidroxiapatite (Vermelho et al. , 2017).

8. RESTAURAÇÕES DIRETAS

Atualmente, as resinas compostas são comumente utilizadas, apresentando vantagens como boas propriedades estéticas, uma boa durabilidade e ainda o facto de possuírem uma técnica conservadora e poderem ser facilmente reparáveis. Porém também apresentam algumas desvantagens, como a fratura, o desgaste e a microinfiltração resultante da contração de polimerização (Davari, Daneshkazemi, Behniafar & Sheshmani, 2014 ; Heymann et al. , 2013).

As restaurações diretas em compósito possuem várias aplicações clínicas como : restaurações classes I, II, III, IV, V e VI, *buildups*, selantes, facetas, encerramento de diastemas e cimentos para restaurações indiretas. Por outro lado, também apresentam contraindicações, tais como na impossibilidade de isolamento do campo operatório e também em restaurações extensas (Heymann et al. , 2013).

Para a reabilitação dentária além da restaurações diretas, pode-se também recorrer a restaurações indiretas, que são realizadas em laboratório a partir de uma réplica em gesso do preparo dentário ou através de *CAD-CAM*, ilustradas na figura 9 (Heymann et al. , 2013).

As restaurações indiretas estão indicadas em casos de elevada necessidade estética e ainda em restaurações extensas. E estão contra-indicadas em situações de forças oclusais excessivas, de preparos subgingivais profundos e aquando da incapacidade de manter um isolamento adequado (Heymann et al. , 2013).

Para uma escolha adequada do material restaurador e da técnica, é necessário ter como base vários fatores, tais como: o tamanho da lesão e a etiologia, a estética, o estado periodontal e endodôntico, o número de dentes afetados, e por fim a colaboração do paciente (Smithson, Newsome, Reaney & Owen, 2011).



Figura 9- Reabilitação com restaurações indiretas de um paciente com erosão intrínseca (Adaptado de Gierthmuehlen & Steger, 2016).

Idealmente, a adesão à estrutura dentária, deve conferir retenção, selamento marginal, durabilidade clínica e deve ser fácil de executar (Armstrong et al. , 2017).

A fim de avaliar e melhorar as técnicas de adesão é essencial recorrer a testes *in vitro* que oferecem dados fiáveis não só para o desenvolvimento dos materiais, mas também para a avaliação das variáveis experimentais (Armstrong et al. , 2017).

Estes testes possibilitam a medição da força de adesão entre o adesivo e o esmalte e/ou dentina, com configuração macro ou micro. Na primeira, a área de adesão é superior a 3 mm e pode ser medida em cisalhamento, macrotração ou com um protocolo *push-out*. Enquanto que, na configuração micro, a área de adesão é igual ou inferior a 1 mm e o teste mais utilizado é o teste de microtração (μ TBS) (Van Meerbeek et al. , 2010).

9. TESTE DE MICROTRAÇÃO

O teste de microtração (μ TBS) é considerado o teste *standard* da avaliação da força de adesão entre os materiais restauradores e os substratos dentários (esmalte e dentina). Além disso, é bastante versátil e apresenta vantagens, tais como o facto da fratura das amostras ocorrer maioritariamente na interface adesiva, a capacidade de testar amostras pequenas, que podem ser analisadas através da microscopia ótica de varrimento. E ainda, a capacidade de obter múltiplas amostras a partir de um único dente (Castro, Sadek, Batitucci & Miranda, 2014; Van Meerbeek et al. , 2010).

Por outro lado, o teste de microtração exige uma etapa laboratorial mais longa, para a preparação de micro-amostras (Figura 10) e ainda, sensibilidade técnica. Sendo também importante realçar como desvantagens, a sensibilidade e a fragilidade das amostras, que podem sofrer desidratação (Castro et al. , 2014; Van Meerbeek et al. , 2010).

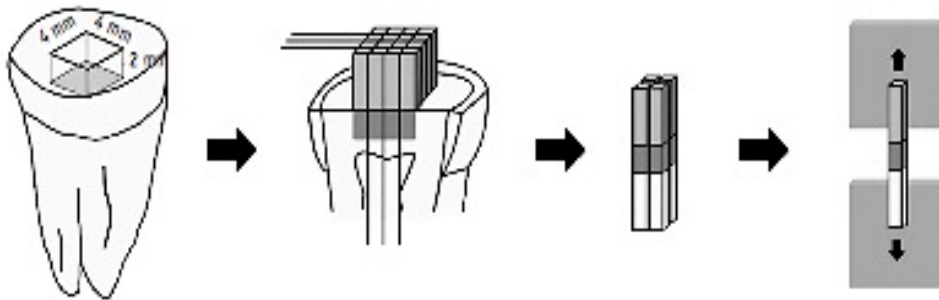


Figura 10- Preparação das amostras para o teste de microtração (μ TBS) (Adaptado de Chang & Shin, 2010).

II. OBJETIVOS

Este estudo apresenta os seguintes objetivos :

1. Avaliar a capacidade de remineralização do esmalte erodido com uma pasta de CPP-ACFP e uma pasta de fluoreto de sódio
2. Avaliar a influência da remineralização prévia do esmalte nas forças de adesão de restaurações diretas

1.1. Hipóteses experimentais :

1.1.1. Hipóteses nulas :

- A capacidade de remineralização do esmalte erodido com pasta de CPP-ACFP não difere da capacidade de remineralização com pasta de fluoreto de sódio
- As forças de adesão de restaurações diretas a esmalte erodido remineralizado com pasta de CPP-ACFP ou pasta de fluoreto de sódio são iguais às forças de adesão de restaurações diretas a esmalte erodido não remineralizado

1.1.2. Hipóteses alternativas:

- A capacidade de remineralização de esmalte erodido com pasta de CPP-ACFP difere da capacidade de remineralização com pasta de fluoreto de sódio
- As forças de adesão de restaurações diretas a esmalte erodido remineralizado com pasta de CPP-ACFP ou pasta de fluoreto de sódio são diferentes das forças de adesão de restaurações diretas a esmalte erodido não remineralizado

Influência da remineralização de esmalte dentário erodido com nanocomplexos fluoretados derivados da caseína (CPP-ACFP) nas forças adesivas de restaurações diretas

III. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Recolha e preparação das amostras :

Foram recolhidos quarenta incisivos de bovino (Fig.11) a partir de vinte mandíbulas, fornecidas pelo Matadouro Regional de Mafra (autorização da Comissão de Ética-anexo III), sendo excluídos os dentes que apresentassem lesões de esmalte. Para proceder à extração dos dentes, recorreu-se à utilização de sindesmótomo, alavanca e boticão.



Figura 11- Incisivos de bovino

De seguida, foram removidos os restos de tecido orgânico com uma cureta Gracey $\frac{3}{4}$ e os dentes foram colocados em cloramina tri-hidratada (1%) a 4°C durante sete dias, num frasco esterilizado com tampa (100ml), como pode ser observado na figura 12. Após o período de sete dias foram armazenados em água destilada a uma temperatura de 4°C (ISO/TS 11405 2015).



Figura 12- Incisivos de bovino armazenados em cloramina tri-hidratada a 1%

Depois, os dentes foram fixados e estabilizados em cera colante e procedeu-se ao corte no sentido vestibulo-lingual ao nível da junção amelocimentária para a separação

da coroa e da raiz, como pode ser observado na figura 13, com o auxílio do Micrótomato de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca). Posteriormente as coroas foram higienizadas com uma escova profilática a baixas rotações.



Figura 13 – Corte de separação da coroa e da raiz no Micrótomato de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca)

Realizou-se ainda, um acesso à câmara pulpar com uma broca esférica de turbina de diâmetro de 8mm, a limpeza de todos os restos pulpares com o auxílio de uma colher de dentina e por fim a lavagem e a secagem da câmara com um jato de ar/água.

Para o preenchimento da câmara pulpar, foi necessário realizar o condicionamento ácido com ácido ortofosfórico a 37 %, lavar e secar, de seguida a aplicação do sistema adesivo *Scotchbond™ Universal* (3M ESPE, MN, E.U.A.) em 5 camadas com um *microbrush*, secar durante 5 segundos com o jato de ar e fotopolimerizar durante 20 segundos. E ainda, a aplicação de resina composta (*Filtek™ Z250* – 3M ESPE, MN, E.U.A.) em camadas de 2 mm, removendo os excessos com o recurso a uma espátula angulada e fotopolimerizando de seguida durante 40 s. Este procedimento encontra-se ilustrado na figura 14.

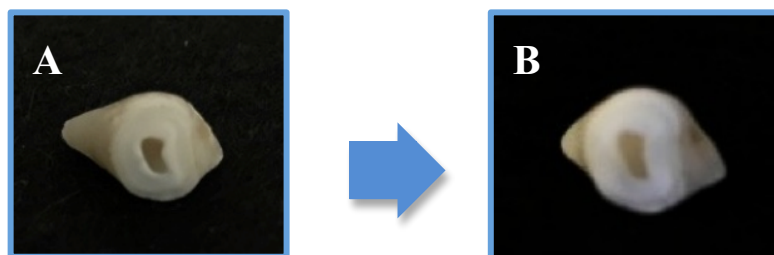


Figura 14 – Preenchimento da câmara pulpar com resina composta. A- Amostra após o corte/ B- Após o preenchimento da câmara pulpar

Por fim, as superfícies vestibulares das coroas dos dentes foram aplanadas/padronizadas com lixas SIC de grão 600 (Buehler® Ltd, Lake Bluff, IL, USA) numa máquina de polimento rotacional (LaboForce-1, Struers, Dinamarca) com refrigeração constante de água corrente, tendo o cuidado de apenas remover parte do esmalte, como está ilustrado na figura 15. Posteriormente os dentes foram lavados e armazenados em água destilada a uma temperatura de 4°C.

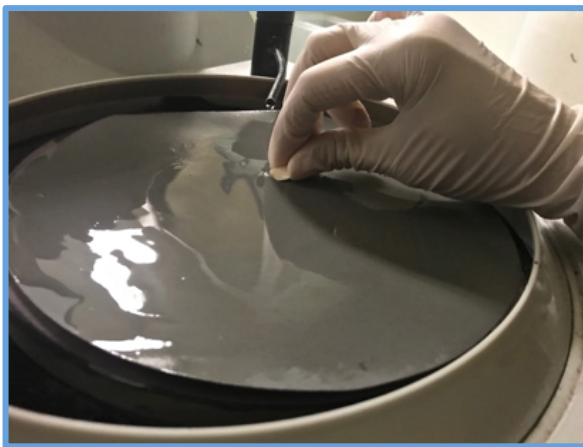


Figura 15 – Polimento das amostras na máquina de polimento rotacional (LaboForce-1, Struers, Dinamarca)

2. Distribuição das amostras :

Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n= 10) através da função *randbetween* do programa *Excel*, como está representado na figura 16. Dos quatro grupos, três foram submetidos a um protocolo de erosão (Er), simulando erosão dentária extrínseca, dos quais dois foram remineralizados com CPP-ACFP (Er-CPP-ACFP) ou com fluoreto de sódio (Er-NaF). O grupo não erodido, foi remineralizado com fluoreto de sódio (nEr-NaF).

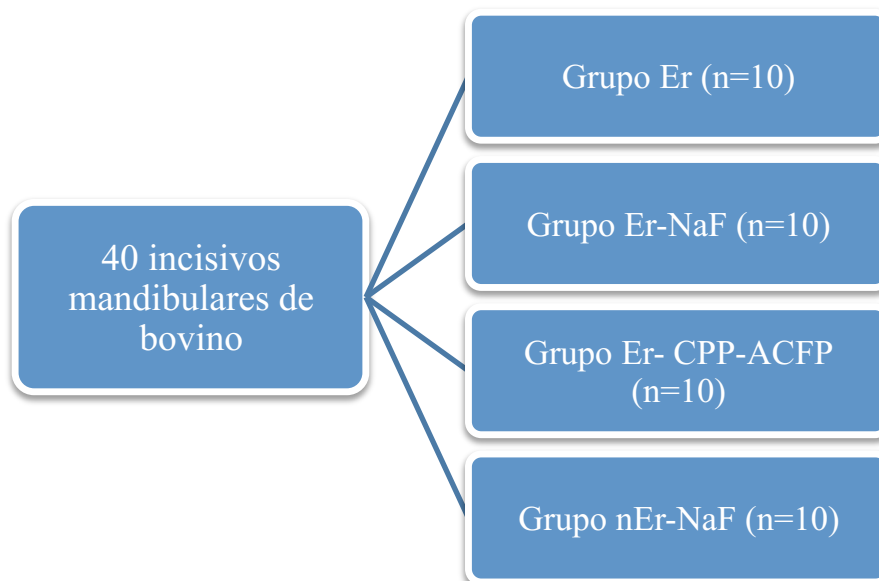


Figura 16 – Esquema de distribuição das amostras

Os dentes foram numerados com caneta de acetato na face lingual, de forma a não interferir com a face a aderir (Fig. 17).

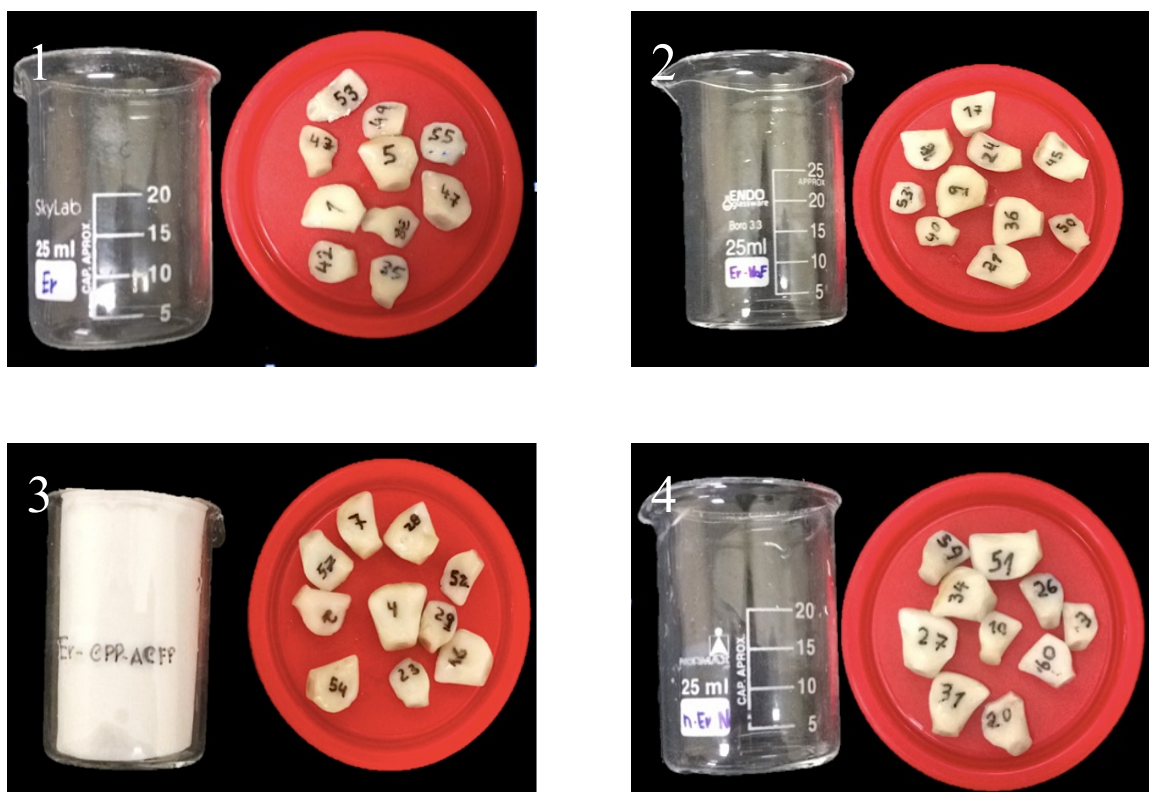


Figura 17 – Amostras numeradas e distribuídas nos 4 grupos. 1- Grupo erosão/ 2- Grupo Erosão-Fluoreto de sódio /3- Grupo Erosão- CPP-ACFP / 4- Grupo de não Erosão- Fluoreto de sódio

3. Teste de microdureza de Vickers :

O teste de microdureza de Vickers foi realizado no início do estudo, após o protocolo de erosão no dia 1 para os grupos Er, Er-NaF e Er- CPP-ACFP e ainda no final dos ciclos de erosão/remineralização para todos os grupos experimentais.

Para obter a microdureza recorreu-se à máquina HSV-30[®](Shimadzu), representada na figura 18, com uma carga de 4,903 N durante 5 segundos. Foram realizadas 5 indentações por amostra (Fig. 19), obtendo-se o valor de microdureza para cada indentação (Fig. 20) e calculando-se os valores da média e do desvio-padrão por amostra.

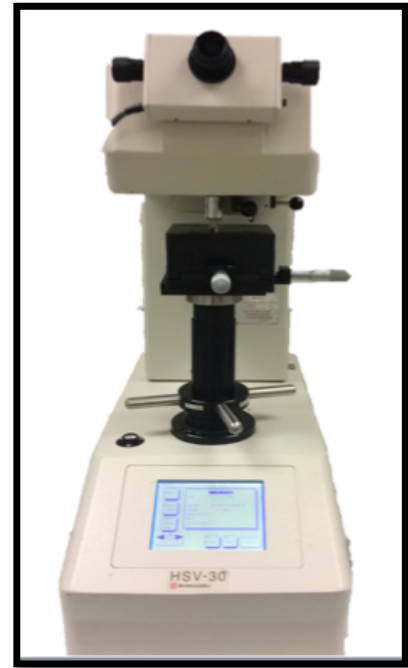


Figura 18 - Máquina HSV-30[®](Shimadzu)

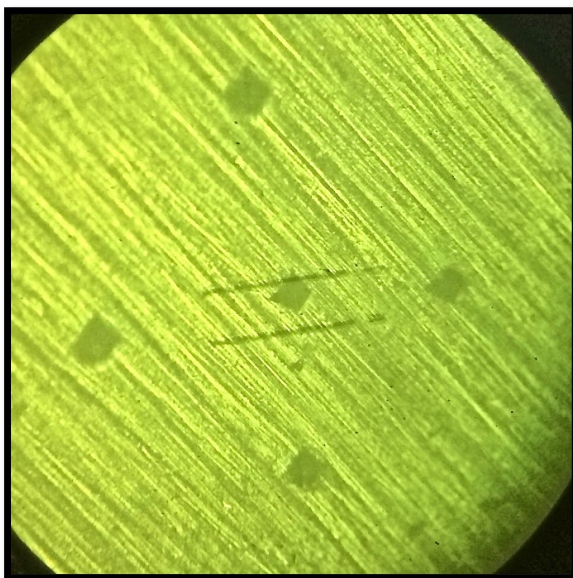


Figura 19- Exemplo das 5 indentações numa amostra (Ampliação 200x)

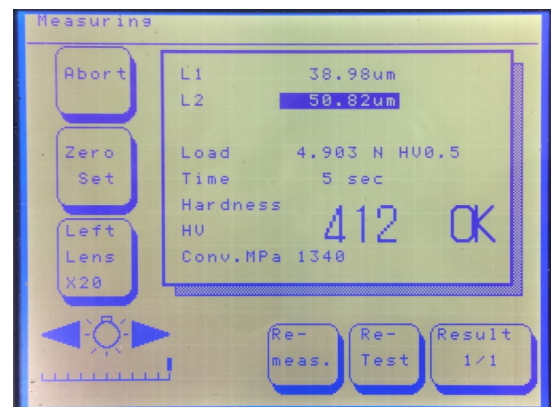


Figura 20 -Exemplo de valor de microdureza em VHN (Vickers Hardness Number)

4. Ciclos de erosão /remineralização :

Na figura 21 é possível observar os ciclos de erosão/remineralização realizados para todos os grupos experimentais.

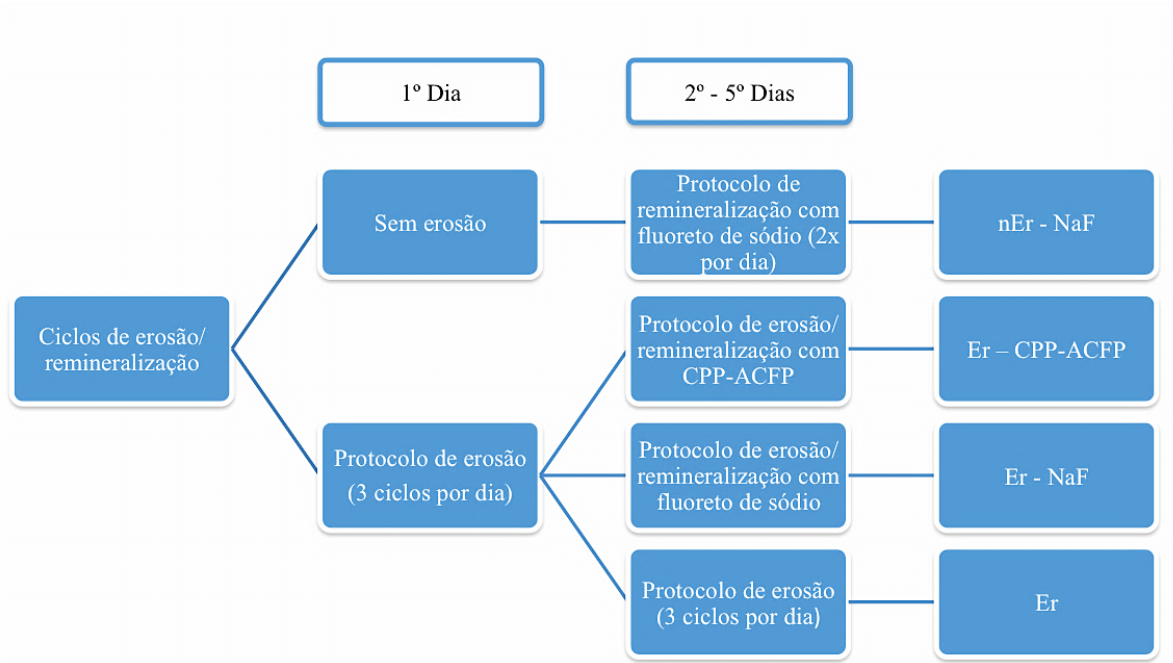


Figura 21- Esquema dos ciclos de erosão/remineralização para todos os grupos experimentais

4.1. Protocolo de erosão :

No 1º dia foi realizado um protocolo de erosão para os grupos de Er-NaF e Er- CPP-ACFP e do 1º até ao 5º dias para o grupo de Er. Este protocolo diário consistiu na colocação das 10 amostras de cada grupo durante 2 minutos num recipiente com 5 cm de diâmetro, contendo 25 ml da solução erosiva, que consistiu no refrigerante *Sprite*[®] (Fig. 22), sob agitação constante (100 rpm).



Figura 22- Solução erosiva *Sprite*[®]

Posteriormente procedeu-se à lavagem com água corrente durante 30 segundos e ao armazenamento das amostras num recipiente com 10 ml de saliva artificial na estufa a 37°C. Este procedimento foi realizado três vezes de 3 em 3 horas.

4.2. Protocolo de erosão/remineralização :

Do 2º dia até ao 5º dia, foram realizados vários ciclos de erosão/remineralização para os grupos Er- CPP-ACFP (Fig.23) e Er-NaF (Fig.24), através do seguinte protocolo : colocação das amostras num recipiente contendo a suspensão pasta : saliva artificial (1:3) e escovagem das amostras durante 15 segundos com uma escova elétrica paralela à superfície da amostra, no caso da pasta de fluoreto de sódio (Paradontax[®], GlaxoSmithKline, Reino Unido), cuja composição se encontra descrita no anexo II, ou com uma zaragatoa, no caso da pasta de CPP-ACFP (Tooth mousse Plus[®], GC Corporation, Japão), cuja composição se encontra descrita no anexo I. De seguida, as amostras foram lavadas em água corrente durante 30 segundos e guardadas num recipiente com 10 ml de saliva artificial (Fig.25) na estufa a 37°C durante três horas. Após este período, foi efetuado duas vezes o protocolo de erosão anteriormente descrito na secção 3..4.1..



Figura 23- Pasta de CPP-ACFP



Figura 24- Pasta de fluoreto de sódio

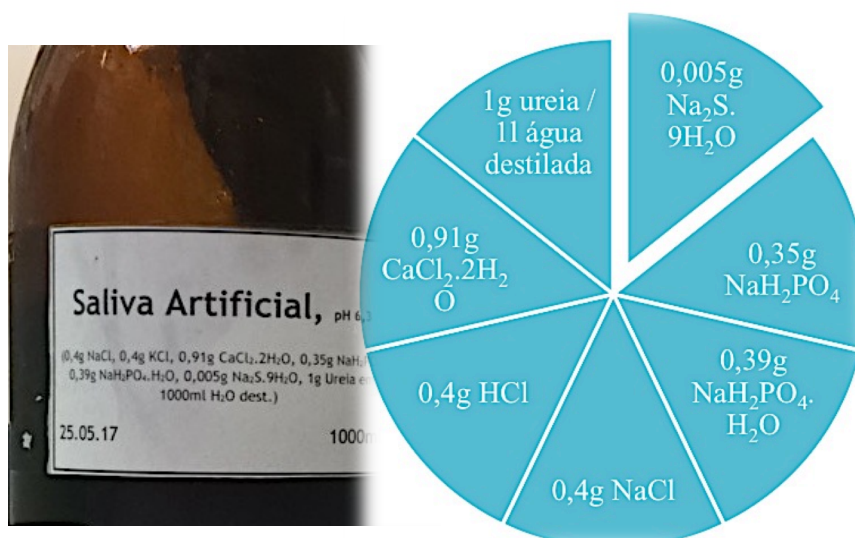


Figura 25- Saliva artificial (pH=6,3) e a sua composição

4.3. Protocolo de remineralização :

Do 2º dia até ao 5º dia foi realizado um protocolo de remineralização para o grupo nEr- NaF, como descrito anteriormente na secção 3.4.2., sendo neste grupo realizado 2 vezes por dia, com um intervalo de 3 horas. Não foi realizado o protocolo erosivo neste grupo.

5. Confeção das restaurações diretas :

5.1. Confeção da chave :

Para a confeção das restaurações diretas foi realizada uma chave com uma placa termoplástica de 1,5mm de espessura de cilindros de *putty* com uma espessura de 6 mm e um diâmetro ligeiramente superior à zona polida de esmalte nas amostras, como pode ser observado na figura 26. Para realização da chave, foi necessário utilizar a máquina de vácuo (Fig. 27) e após a realização da chave foram removidos os cilindros de *putty*.

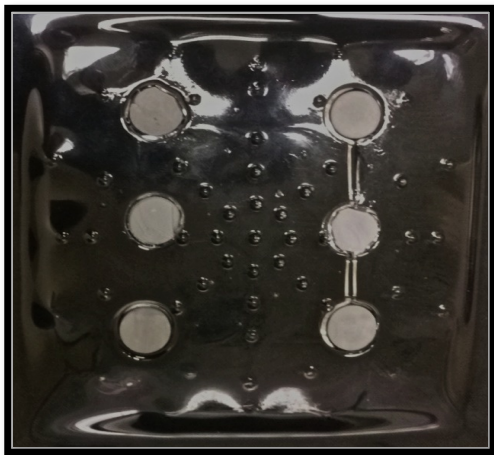


Figura 26 – Chave antes de remover os cilindros de *putty*

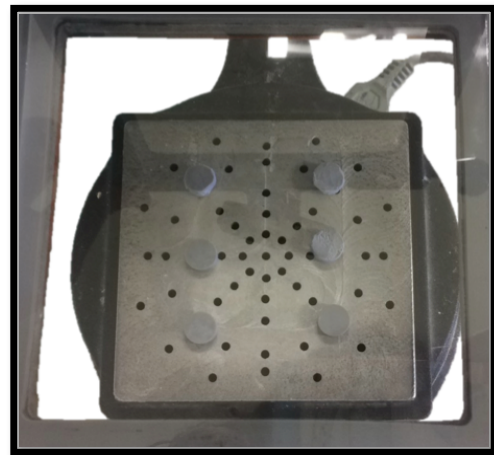


Figura 27 – Confeção da chave na máquina de vácuo

5.2. Condicionamento do esmalte :

O esmalte das faces vestibulares de todos os dentes foi condicionado 30 s com ácido ortofosfórico a 37% (Fig.28), lavado com água durante 30 s e seco com jato de ar. De seguida, foi aplicado o adesivo *Scotchbond™* Universal (Fig.29) e com recurso ao jato de ar procedeu-se à evaporação do solvente durante 5 s.

Por fim, efetuou-se a fotopolimerização do adesivo durante 20 s, como ilustrado na figura 30.

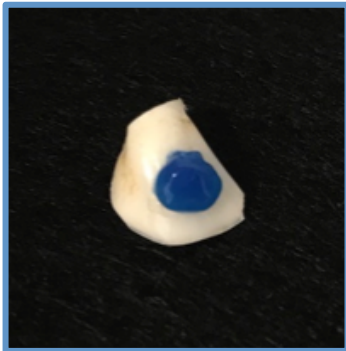


Figura 28- Condicionamento do esmalte com ácido ortofosfórico a 37%



Figura 29 - Scotchbond™ Universal

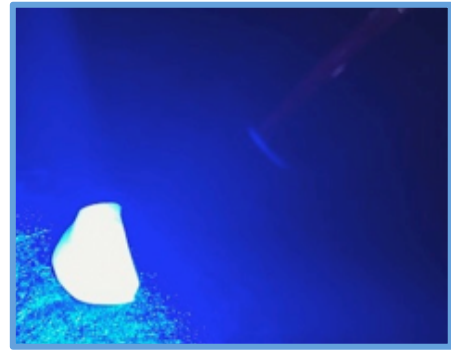


Figura 30 – Fotopolimerização do adesivo

5.3. Adesão :

A resina body *Filtek™ Supreme XTE* (3M ESPE, MN, E.U.A.), ilustrada na figura 31, foi colocada nas chaves da placa termoplástica, onde foram posicionadas diretamente as faces vestibulares das amostras e para uma melhor transição entre o esmalte e a resina, utilizou-se uma espátula angulada. De seguida, efetuou-se a fotopolimerização durante 40 s em várias posições.

Após a adesão, as amostras (Fig. 32) foram armazenadas em água destilada numa estufa a 37°C durante 24 h.



Figura 31- Resina body *Filtek™ Supreme XTE* cor A3



Figura 32- Amostra com restauração direta

6. Corte das amostras :

Para a formação de palitos, os dentes foram colados com cera colante, pela sua face lingual, ao suporte de fixação. Depois o suporte de fixação foi posicionado no micrótomo de tecidos duros e programou-se a realização de cortes múltiplos a uma velocidade de 0,125 mm/ min, com um espaçamento de $0,8\text{mm} \pm 0,2\text{mm}$ entre si.

Efetuar-se cortes transversais, longitudinais e por fim um corte único paralelo ao suporte de fixação para libertar os palitos obtidos, que podem ser observados na figura 33.

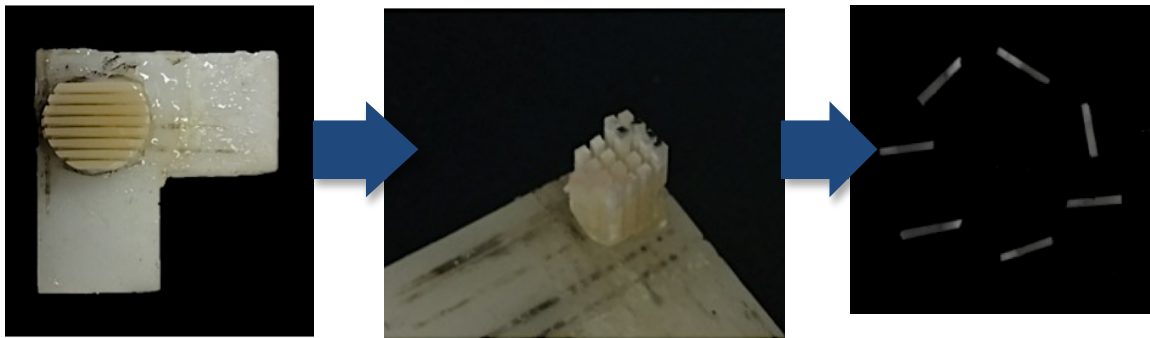


Figura 33 – Cortes múltiplos das amostras para a formação de palitos

7. Teste de microtração :

Cada palito foi colado ao jig de aço inoxidável (Fig.34), com cola de cianoacrilato e o jig foi colocado na máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS 50 kN, Kyoto, Japão), que foi programada com uma velocidade de tração de 0,5mm/min.

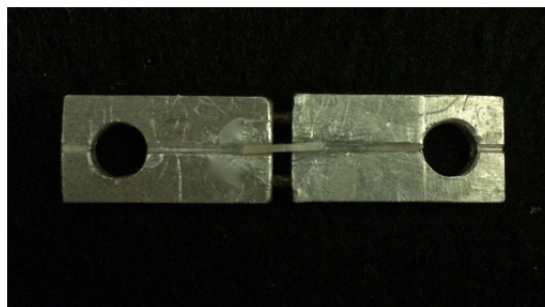


Figura 34- Palito no jig de aço inoxidável

Após a fratura do palito, foi medida a área da superfície aderida (X e Y em mm), com o auxílio de uma craveira digital (Fig.35), e registada a força (kN) indicada no aparelho.

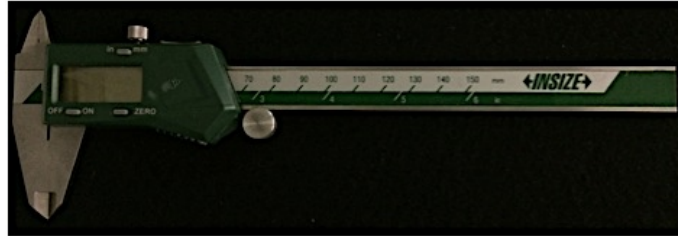


Figura 35 – Craveira digital

O local da quebra do palito foi observado através de uma lupa estereoscópica, sendo classificado o tipo de fratura (Fig. 36).

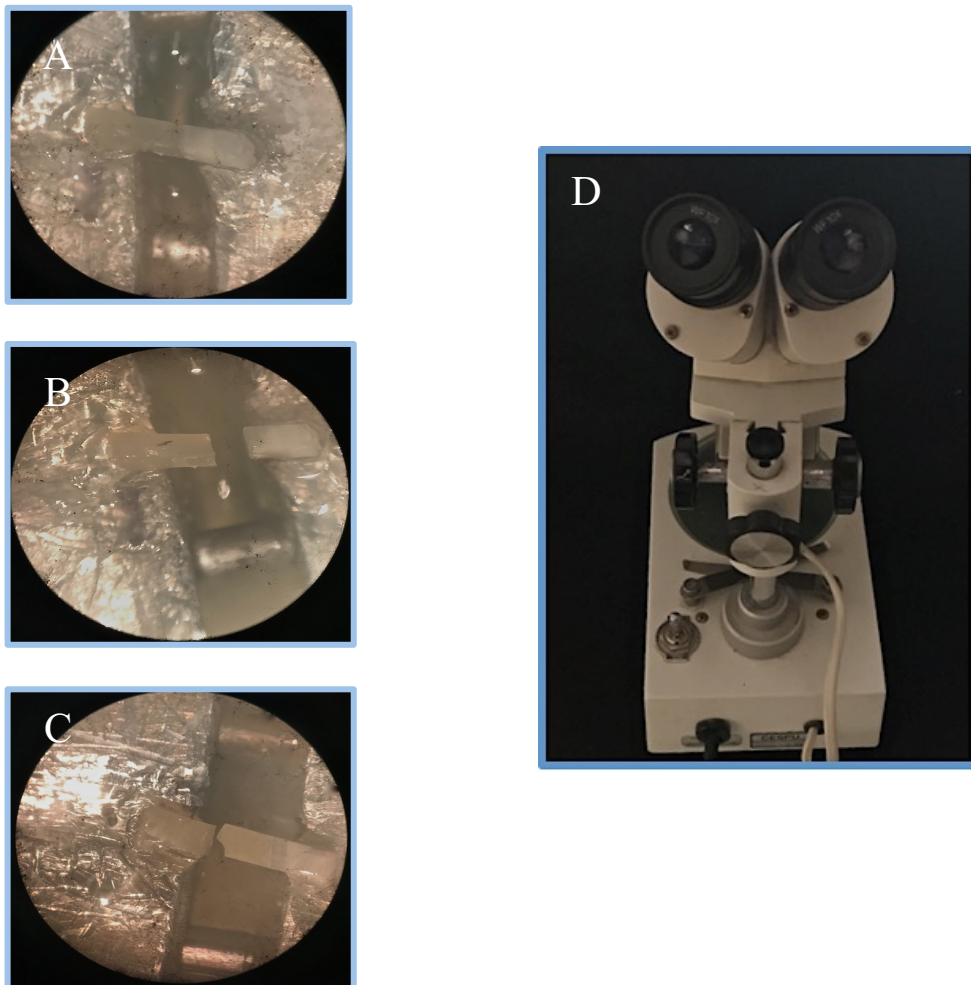


Figura 36- Análise do local de fratura dos palitos através da lupa estereoscópica (Ampliação de 40x) A- Palito sem fratura/ B- Exemplo de fratura adesiva/ C- Exemplo de fratura coesiva na resina/ D- Lupa estereoscópica

8. Análise estatística :

A análise estatística envolveu duas variáveis dependentes quantitativas: a “microdureza” (MD) e a “força adesiva” (FA). Para além destas duas variáveis testou-se também a variável qualitativa “tipo de fratura”. Fixou-se como referência para aceitar ou rejeitar a hipótese nula um nível de significância (α) ≤ 0.05 .

Foram usados os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para testar a normalidade de distribuição dos valores. Uma vez que estes não apresentaram uma distribuição normal, e não existia igualdade de variâncias entre os grupos, foram usados testes não-paramétricos para a análise dos resultados.

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparações entre vários grupos.

Uma vez que se encontrou uma diferença estatisticamente significativa entre os valores de MD inicial para os vários grupos ($p < 0.001$), foi utilizada a MD relativa na restante análise estatística. A MD relativa foi calculada pela seguinte fórmula :

$MD_{relativa} = (MD_i / MD_0) \times 100$, em que MD_i é a MD no ponto t_1 ou t_2 , e MD_0 é a MD inicial.

O teste de Friedman foi utilizado para comparar longitudinalmente os valores de MD relativa, utilizando o teste de Wilcoxon para comparações emparelhadas.

O teste do Qui-quadrado foi utilizado para testar a relação entre a percentagem de cada tipo de fratura ocorrido e os grupos de teste.

A análise estatística foi efetuada com o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 23.0 para Windows (SPSS 23.0, IBM SPSS) e o programa EXCEL 2010 para Windows 10.

IV. RESULTADOS

Para a obtenção do valor de microdureza do esmalte, recorreu-se ao teste de Vickers, que foi realizado no início do estudo para todas as amostras (t_0), após o 1º dia de erosão (t_1) para os grupos erodidos (Er, Er-NaF e Er-CPP-ACFP) e por fim, após os ciclos de erosão/remineralização (t_2) para todos os grupos. O valor médio de MD_0 encontrado para todos os grupos foi de 410.3 ± 133.9 VHN.

Na seguinte tabela, estão representados os valores de MD relativa para os grupos em t_0 , t_1 e t_2 .

Tabela 1- Valores de MD relativa para os grupos de estudo em t_0 , t_1 e t_2 . Letras diferentes em sobrescrito indicam diferenças estatisticamente significativas.

Grupos	t_0	t_1	t_2
Er	100 ^a	106.85±46.39 ^a	90.17±29.41 ^b
Er-NaF	100 ^a	86.99±44.82 ^b	86.98±40.85 ^b
Er-CPP-ACFP	100 ^a	93.28±43.12 ^b	108.17±42.19 ^a
nEr-NaF	100 ^a	n.m.	125.91±66.56 ^a

O teste de Friedman mostrou para todos os grupos erodidos, diferenças estatisticamente significativas entre os valores de MD relativa em t_0 , t_1 e t_2 .

Para o grupo nEr-NaF, não se verificaram alterações significativas, sendo o valor final de MD semelhante ao inicial ($p=0.111$).

Dos grupos erodidos, apenas o grupo Er-CPP-ACFP conseguiu recuperar a MD inicial após os ciclos de erosão/remineralização ($p=0.427$). Os grupos Er e Er-NaF tinham em t_2 valores de MD relativa estatisticamente inferiores aos valores iniciais ($p=0.008$ e $p=0.007$, respetivamente).

Após a realização dos ciclos de erosão/remineralização, foram aderidas restaurações diretas em resina composta com o intuito de perceber se a remineralização prévia do esmalte erodido poderia influenciar as forças de adesão.

Na figura 37, estão ilustrados os valores de forças de adesão (FA), expressas em MPa, para todos os grupos.

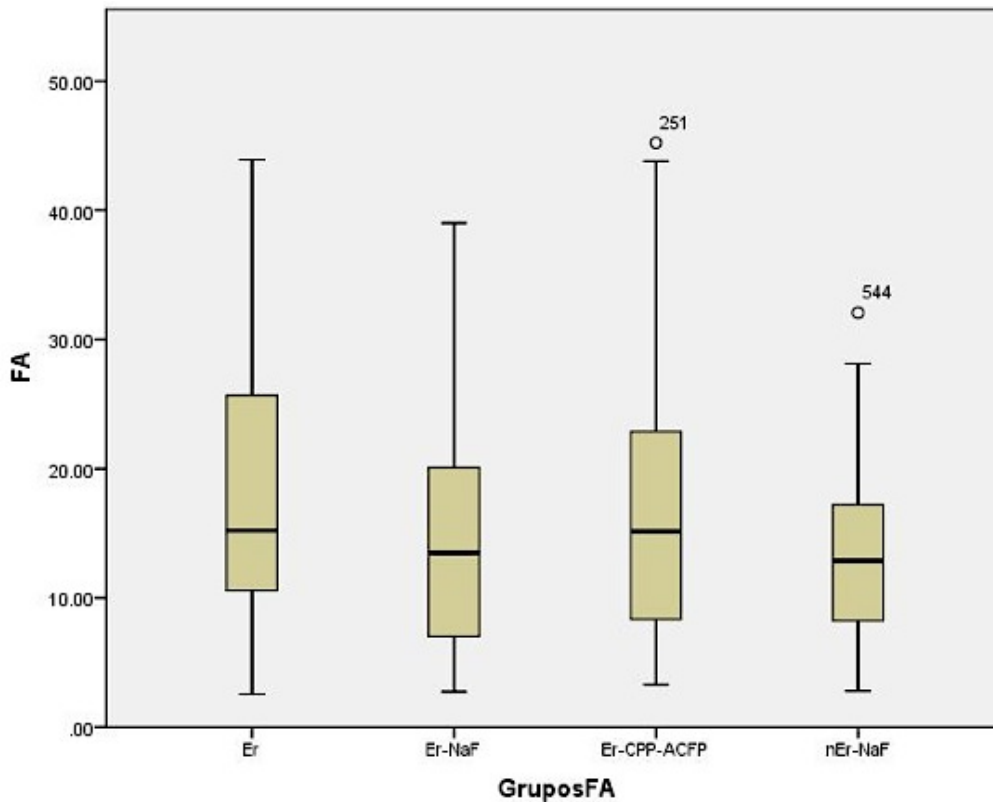


Figura 37- Valores de forças de adesão em MPa de todos os grupos

Verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0.014$). Comparações múltiplas revelaram apenas entre os grupos Er e nEr-NaF uma diferença estatisticamente significativa ($p=0.021$), sendo os restantes grupos semelhantes entre si.

Na figura 38 está ilustrada a percentagem de fraturas coesivas, adesivas e mistas relativamente ao total de fraturas para todos os grupos experimentais.

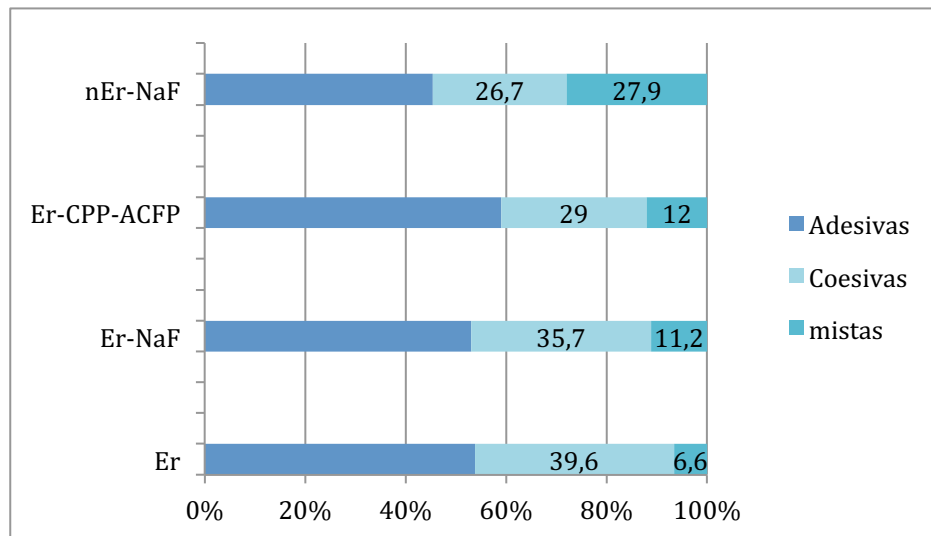


Figura 38- Percentagem de cada tipo de fraturas relativamente ao total de fraturas em todos os grupos (Er; Er-NaF; Er-CPP-ACFP; nEr-NaF)

A frequência da ocorrência de cada tipo de fratura foi analisada pelo teste de Qui-Quadrado, tendo-se verificado que esta é dependente do grupo de estudo ($p=0.001$). No entanto, as fraturas adesivas foram as mais frequentes em todos os grupos.

V. DISCUSSÃO

A erosão dentária é uma condição multifatorial cada vez mais prevalente, que pode levar a uma estética comprometida, redução da eficácia mastigatória e dor, graças à exposição dentinária. É caracterizada pelo *cupping* das cúspides e pela perda da morfologia e do contorno das peças dentárias, o que poderá conduzir à redução da dimensão vertical (Attin & Wegehaupt, 2014 ; Carvalho et al. , 2015).

Para o tratamento da erosão dentária é essencial diagnosticar os fatores etiológicos, de forma a promover um tratamento adequado ao paciente (Carvalho et al. , 2015).

A abordagem terapêutica pode ser classificada em preventiva ou restauradora. A preventiva visa impedir a progressão ou reduzir as lesões de erosão, através da remineralização do tecido dentário perdido, em lesões iniciais. Enquanto que, a abordagem restauradora tem como objetivo impedir a progressão de lesões avançadas e restaurar a estética e a função (Carvalho et al. , 2015).

O presente estudo teve como objetivos avaliar a capacidade de remineralização do fluoreto de sódio e dos nanocomplexos fluoretados derivados da caseína (CPP-ACFP) e a influência da remineralização prévia nas forças de adesão de restaurações diretas.

Neste estudo optou-se pelo uso de incisivos mandibulares de bovino ao invés de dentes humanos, devido à facilidade de obtenção de amostras em quantidade suficiente e com qualidade, sem a presença de lesões de cárie. Além disso, já foi verificado que em estudos de erosão não existem diferenças absolutas relevantes entre o uso de dentes de bovino ou humano (Teruel et al. , 2015 ; Wiegand & Attin, 2011).

Foi necessária a preparação das amostras, incluindo o seu polimento e padronização, o que poderá de certa forma alterar as qualidades físicas do esmalte, mas é um procedimento necessário para a realização do teste de microdureza e microtração.

Os dentes foram submetidos a protocolos de erosão, com o refrigerante *Sprite*[®], à semelhança de estudos anteriores (Vieira, Jager, Ruben & Huysmans, 2007 ; Vieira, Ruben, Bronkhorst & Huysmans, 2011).

A bebida apresenta um pH ácido de 2,58 e uma capacidade tampão de 7,35 ml de NaOH 0,5 mmol/l no intervalo de pH 2,81-7 e de 3,4 ml de NaOH 0,5mmol/l para um intervalo de pH de 2,81-5,5 (Vieira et al. , 2011). Esta capacidade tampão, reflete a

capacidade de dissolução do esmalte numa bebida erosiva. Ou melhor, quanto maior for a capacidade tampão da solução erosiva, mais tempo será necessário para que a saliva consiga neutralizar o ácido, pelo que ocorrerá uma maior desmineralização (Lussi et al., 2011). Neste estudo, optou-se pelo uso desta bebida, uma vez que já foi utilizada como solução erosiva em estudos anteriores, o que facilita a comparação de resultados.

No presente estudo, os grupos Er-CPP-ACFP e Er-NaF foram sujeitos, durante 5 dias a três ciclos de erosão/remineralização, com períodos de erosão de 2 min, o que fez um total de 6 min de erosão no primeiro dia e 4 min por dia, do 2º ao 5º dias, ou seja, um total de 22 min de erosão em todo o estudo. Enquanto que, o grupo de Er fez um total de 6 min de erosão por dia, ou melhor, um total de 30 min erosão em todo o estudo. Este protocolo foi baseado em protocolos usados anteriormente (Vieira et al., 2011). Embora com um período total de erosão mais curto, uma vez que a técnica usada para a avaliação da erosão, a microdureza de Vickers, é sensível a perdas relativamente pequenas de esmalte dentário. Com outras técnicas de avaliação do desgaste dentário, como a profilometria, o recurso a 3 ciclos de erosão poderia não ser suficiente, dado que a perda de tecido dentário provocada pela erosão poderia estar abaixo do limite de deteção (Wiegand & Attin, 2011). Extrapolando para a situação clínica, este período de 30 min de erosão, embora alternado com períodos de remineralização com saliva artificial, é relativamente longo. No entanto, quando comparado com outros estudos *in vitro*, com períodos de 48 min, como o de Vieira et al. (2011) ou 60 min, como o de Rees et al. (2007), é bastante mais curto e como tal, clinicamente poderá ser considerado mais relevante.

Os testes de microdureza, como o Vickers e o Knoop, avaliam a microdureza que está relacionada com o enfraquecimento do esmalte, resultante da dissolução promovida pelo ácido. Enquanto que, a profilometria mede o desgaste dentário, com grande precisão, através da diferença da altura entre a área exposta à solução erosiva e a área de referência, coberta por um material (por exemplo resina composta). Uma das desvantagens dos testes de microdureza, consiste na dificuldade da medição das diagonais das indentações com precisão em esmalte erodido, dado que os limites das indentações por vezes podem não ser perceptíveis. Este facto, poderá levar a uma maior probabilidade de erro no valor de microdureza após o protocolo de erosão (Attin, 2006; Passos & Santiago, 2014).

Por outro lado, a profilometria não é um método adequado para a avaliação do desgaste dentário em lesões de erosão iniciais, ao invés das lesões severas, enquanto que

os testes de microdureza são um método adequado para lesões iniciais e não para lesões severas. Desta forma, o teste de microdureza pode complementar-se com a profilometria ótica (Passos & Santiago, 2014).

Optou-se por testar a adesão recorrendo à confecção de restaurações diretas, em vez de optar por restaurações indiretas, dado que a preparação destas requer um maior número de passos e mais interfaces, o que pode levar a uma maior probabilidade de erro.

No entanto, um dos inconvenientes das restaurações diretas é a contração de polimerização. Para melhorar a adesão pode optar-se por restaurações indiretas aderidas com resina composta aquecida, dado que com o aquecimento da resina aumenta a taxa de conversão, que é expectável, que juntamente com o número de ligações duplas de carbono, esteja correlacionada com as forças de adesão (Malta, Magne & Monteiro-Junior, 2014).

Optou-se pela utilização do sistema adesivo, *Scotchbond™* Universal, devido aos bons resultados, que apresentou noutros estudos (Perdigão et al. , 2014 ; Wagner et al. , 2014). Wagner et al. (2014) verificou que a utilização do *Scotchbond™* Universal é fiável em diferentes situações clínicas, dado que apresenta valores de forças de adesão semelhantes em diferentes modos de aplicação (*etch-and-rinse* e *self-etch*).

Este sistema adesivo multi-modo possui monómeros 10-MDP, que se ligam quimicamente aos cristais de hidroxiapatite, e possibilita ainda a adesão à zircónia, à alumina e aos metais. Além disso, possui um copolímero de *Vitrebond™*, o ácido polialquenoico, que confere uma melhor adesão à dentina em diferentes níveis de humidade, dado que promove, mais uma vez, a ligação química à hidroxiapatite. E por fim, o silano que possibilita uma melhor adesão à cerâmica (Carvalho et al. , 2015 ; 3M ESPE, 2013).

As restaurações diretas foram confeccionadas em resina composta *Filtek Supreme™* XTE universal, que possui resinas bis-GMA, UDMA, bis-EMA e TEGDMA e está indicada em restaurações diretas anteriores e posteriores, em *build-ups*, *splinting* e restaurações indiretas (*inlays*, *onlays*, *facetas*) (3M ESPE, 2005).

O teste de microtração, é o teste *standard* para a avaliação das forças de adesão entre os materiais restauradores e os substratos dentinários, possibilitando a análise de múltiplas amostras, a partir de uma único dente (Castro et al, 2014 ; Van Meerbeek et al. , 2010).

No entanto, apresenta diversas desvantagens tais como : a sensibilidade técnica, a fragilidade e a sensibilidade dos palitos, que podem sofrer desidratação, e ainda uma etapa laboratorial longa para a preparação das amostras (Castro et al, 2014 ; Van Meerbeek et al, 2010). Todos estes fatores, mas principalmente a necessidade de experiência laboratorial do operador, poderão levar a uma maior probabilidade de erro no uso desta técnica. Na medição da área de superfície aderida (X e Y em mm), com a craveira digital, para o cálculo das forças de adesão, também poderá estar envolvido um fator de erro.

No presente estudo, foi analisada a microdureza relativa, visto que se verificaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0.001$) nos valores de microdureza inicial (t_0) entre os grupos experimentais, o que poderia interferir com os resultados. Esta variável foi analisada em três tempos : no início do estudo (t_0), após 1 dia de erosão (t_1) e no final dos ciclos de erosão/remineralização (t_2), em cada grupo.

O grupo de erosão (Er) foi submetido a um protocolo erosivo com a bebida *Sprite*[®] e 3 ciclos de erosão por dia, durante 5 dias.

Ao analisar as diferenças entre os valores de MD relativa de t_0 para t_1 , não se verificaram diferenças estatisticamente significativas ($p = 0.782$). Ao contrário dos grupos Er-NaF Er-CPP-ACFP, que foram submetidos ao mesmo protocolo erosivo no 1º dia e apresentaram uma redução estatisticamente significativa. Este facto poderá dever-se a um erro de procedimento na realização dos ciclos de erosão ou a erros na medição da microdureza através do teste de Vickers no 1º dia, no grupo de Er. De t_1 para t_2 , verificou-se uma diminuição da microdureza, com uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0.001$) e de t_0 para t_2 , observaram-se valores de MD relativa estatisticamente inferiores aos valores iniciais ($p = 0.008$), como era expectável. Este grupo constitui o controlo negativo do presente estudo, ou seja, permite comprovar que através do uso da solução erosiva *Sprite*[®] ocorre de facto erosão do esmalte, que se reflete na diminuição da microdureza inicial após os ciclos de erosão, como foi verificado.

O grupo Er-NaF foi submetido no 1º dia ao protocolo erosivo e do 2º ao 5º dias a ciclos de erosão/remineralização com fluoreto de sódio. De t_0 para t_1 , ocorreu uma diminuição da microdureza, com uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0.001$), como era expectável. De t_1 para t_2 , não se observaram diferenças estatisticamente significativas ($p = 0.981$), o que significa que o fluoreto de sódio não apresenta uma efeito anti-erosivo suficiente para evitar a diminuição da microdureza

provocada pela erosão. De t_0 para t_2 , ocorreu uma diminuição da microdureza, com uma diferença estatisticamente significativa ($p=0.007$). Sendo possível concluir que o fluoreto de sódio não apresenta uma capacidade de remineralização suficiente para anular a perda de tecido dentário provocada pela erosão.

No grupo nEr-NaF foi realizado um protocolo de remineralização com uma pasta de fluoreto de sódio, 2 vezes por dia durante 4 dias. De t_0 para t_2 , verificou-se um aumento da microdureza, sem uma diferença estatisticamente significativa ($p=0.111$). Este grupo constitui o controlo positivo do estudo, dado que não foi submetido a um protocolo de erosão. Não havendo desmineralização, não existe tecido dentário para recuperar, daí não se verificarem diferenças estatisticamente significativas na microdureza inicial após o protocolo de remineralização.

No grupo Er-CPP-ACFP foi realizado o protocolo erosivo no 1º dia e os ciclos de erosão/remineralização com CPP-ACFP do 2º ao 5º dias. De t_0 para t_1 , ocorreu uma diminuição da microdureza, com uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,002$), como era expectável. De t_1 para t_2 , verificou-se um aumento da microdureza, com uma diferença estatisticamente significativa ($p=0.009$), o que significa que a capacidade de remineralização do CPP-ACFP supera a diminuição da microdureza provocada pela erosão. De t_0 para t_2 , ocorreu um aumento da microdureza, embora não tenha uma diferença estatisticamente significativa ($p=0.427$). A partir deste resultado é possível concluir que o CPP-ACFP apresenta uma capacidade de remineralização suficiente para anular a perda de tecido dentário por erosão, sendo capaz de recuperar a microdureza inicial.

Este resultado também se verificou noutro estudo *in vitro* com dentes bovinos, em que o grupo CPP-ACFP apresentou uma diminuição da microdureza inicial após a erosão, que foi compensada pelo aumento da microdureza depois das amostras terem sido submetidas a um protocolo de remineralização com este produto, tendo o autor concluído que o CPP-ACFP apresenta a capacidade de remineralização do esmalte erodido (Somani, Jaidka, Singh & Arora, 2014).

Além disso, num estudo *in situ*, em que cinco voluntários utilizaram goteiras com amostras de esmalte humano erodido, que foram distribuídas em três grupos: I- remineralização *in situ* com CPP-ACP; II- remineralização *in situ* com CPP-ACFP; III- controlo (não foi submetido a nenhum tratamento), e posteriormente foi realizada a medição da microdureza do esmalte com o teste de Vickers. Foi também verificado um aumento da microdureza após a remineralização com CPP-ACFP no esmalte erodido,

sendo constatada mais uma vez, a sua capacidade de remineralização em lesões de erosão dentária (Srinivasan et al. , 2010).

Por outro lado, outros estudos *in situ*, em que foram utilizadas goteiras com amostras de esmalte e dentina bovinos, mostraram que nem o CPP-ACP nem o CPP-ACFP eram eficazes na redução da desmineralização do esmalte e da dentina provocada pela erosão (Wiegand & Attin, 2014).

No presente estudo, a hipótese nula foi rejeitada, dado que a capacidade de remineralização do esmalte erodido com uma pasta de CPP-ACFP, difere da capacidade de remineralização com uma pasta de fluoreto de sódio. Enquanto que, o CPP-ACFP conseguiu anular a perda de tecido dentário provocada pela erosão através da remineralização, o fluoreto de sódio apresentou um efeito anti-erosivo limitado, pelo que a sua capacidade de remineralização não conseguiu compensar a desmineralização provocada pela erosão.

Este resultado está de acordo com a literatura, segundo a qual os compostos fluoretados monovalentes, como o fluoreto de sódio (NaF) em concentrações baixas ou médias apresentam um efeito anti erosivo inexistente ou mínimo (Huysmans et al. , 2014).

Contrariamente, à primeira hipótese nula do estudo, a segunda hipótese nula foi confirmada, visto que as forças de adesão das restaurações diretas a esmalte erodido remineralizado com pasta de CPP-ACFP ou pasta de fluoreto de sódio são iguais às forças de adesão de restaurações diretas a esmalte erodido não remineralizado.

Através da análise estatística das forças de adesão verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre grupos ($p=0.014$). Apenas os grupos nEr-NaF e Er obtiveram uma diferença estatisticamente significativa entre si ($p=0.021$).

Como foi verificado anteriormente, o grupo de nEr-NaF não apresentou diferenças estatisticamente significativas após a remineralização com fluoreto de sódio ($p=0.111$), o que significa que não provocou alterações do esmalte. Sendo assim, o facto do grupo Er apresentar um valor de forças adesivas estatisticamente superior ao grupo nEr-NaF, pode traduzir-se numa alteração positiva das forças adesivas após a erosão, o que está de acordo com a literatura. Segundo Giacomini et al. (2016), é expectável que a erosão do esmalte ao tornar o substrato mais irregular e promover a criação de microporosidades, possa levar a uma melhoria nas forças de adesão graças a uma melhor penetração no substrato. No seu estudo *in vitro* com amostras de esmalte bovino, foi comparado o efeito do sumo de laranja nas forças adesivas ao esmalte, sendo

distribuídas em 4 grupos : controlo (sem tratamento), erosão, erosão+ abrasão e apenas abrasão. Observaram-se valores estatisticamente superiores do grupo de erosão relativamente ao grupo controlo, tendo o autor concluído que na adesão ao esmalte erodido não é necessária a preparação do mesmo.

Por outro lado, noutro estudo *in vitro* foi comparado o efeito da *Coca-Cola*TM na adesão ao esmalte, em amostras de bovino, que foram submetidas a dois tipos de protocolo : erosão e abrasão ou apenas erosão. Nos grupos de apenas erosão encontraram-se valores estatisticamente inferiores aos valores do grupo controlo (sem erosão nem abrasão), ao contrário do presente estudo (Casas-Apayco et al. , 2014).

Do ponto de vista clínico, o facto do grupo Er-CPP-ACFP não apresentar diferenças estatisticamente significativas do grupo Er, mostra que o recurso a uma abordagem preventiva com CPP-ACFP, como primeira alternativa no tratamento da erosão dentária não compromete a eficácia adesiva, caso seja necessário recorrer a uma abordagem restauradora.

No entanto, noutro estudo *in vitro*, foi verificado que o grupo do CPP-ACP melhora a adesão em restaurações de resina composta, com uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), relativamente ao grupo controlo, no qual as amostras foram submetidas a um protocolo de erosão e armazenadas em saliva artificial, não sendo posteriormente remineralizadas (Rizvi, Zafar, Al-Wasifi, Fareed & Khurshid, 2016). Porém, este estudo não é comparável com o presente estudo, dado que o CPP-ACFP com 900ppm de flúor apresenta uma capacidade de remineralização superior ao CPP-ACP (Srinivasan et al. , 2010). Sendo que, esta variável poderia influenciar as forças adesivas.

Atualmente, ainda não existe informação suficiente sobre a influência da remineralização do esmalte erodido com CPP-ACFP nas forças adesivas de restaurações em resina composta, sendo crucial a realização de mais estudos sobre este tema.

Por fim, foi analisado o tipo de fratura na lupa estereoscópica, que pode ser classificada em coesiva (atinge apenas a resina ou o esmalte), adesiva (atinge a interface adesiva) e mista (atinge simultaneamente a resina e o esmalte). Através da análise estatística, verificou-se que a frequência da ocorrência de cada tipo de fratura é dependente do grupo ($p = 0.001$), notando-se no entanto, uma tendência em todos os grupos para uma maior prevalência das fraturas adesivas (nEr-NaF- 45,3% / Er- 53,8% / Er-CPP-ACFP- 59% / Er-NaF- 53,1%). Segundo Scherrer, Cesar & Swain (2010), apenas as fraturas adesivas e as fraturas mistas (com menos de 10% de esmalte ou

resina), devem ser consideradas para o cálculo das forças de adesão dos materiais restauradores aos substratos dentários.

Uma das limitações do presente estudo, consiste na incapacidade de reproduzir as condições clínicas, dado que a erosão dentária é uma condição multifatorial, influenciada por vários fatores de risco e protetores, e estes não podem ser totalmente reproduzidos *in vitro*. Um factor biológico crucial na prevenção da erosão dentária é a saliva, que neutraliza diretamente a solução erosiva, promovendo a formação da película adquirida, que evita o contacto direto entre o ácido e a superfície dentária. A saliva promove também a remineralização quando se encontra supersaturada de iões cálcio, fosfato e flúor em relação à hidroxiapatite. Este efeito foi mimetizado colocando as amostras em saliva artificial entre as exposições ao meio erosivo, uma vez que a saliva artificial é capaz de promover a remineralização dentária, pois apresenta a mesma composição iónica. No entanto, não é capaz de neutralizar diretamente o ácido nem promove a formação da película adquirida, não apresentando mucinas na sua composição. Como já foi referido anteriormente, a remineralização com os nanocomplexos fluoretados derivados da caseína (CPP-ACFP), é conseguida através da ligação da caseína fosfopeptídica (CPP) às proteínas salivares presentes na película adquirida, permitindo a estabilização de grandes concentrações de cálcio, fosfato e flúor. Desta forma, a capacidade de remineralização dos CPP-ACFP encontra-se também mais limitada com o presente protocolo.

Outra limitação deste estudo, é que os estudos *in vitro*, tendem a obter um valor de desgaste dentário aumentado, não refletindo mais uma vez a situação clínica real.

Num futuro estudo seria interessante poder avaliar a correlação entre as concentrações dos iões cálcio, fosfato e flúor na superfície dentária, obtidas após a remineralização com CPP-ACFP e fluoreto de sódio, e após a erosão (grupo de erosão), com a adesão ao esmalte em diferentes sistemas adesivos: *etch-and-rinse*, *self-etch* e ainda adesivos multi-modo.

VI. CONCLUSÃO:

Dentro das limitações deste estudo, é possível concluir que a capacidade de remineralização do esmalte erodido com nanocomplexos fluoretados derivados da caseína (CPP-ACFP), difere da capacidade de remineralização com uma pasta de fluoreto de sódio (NaF). Sendo que os CPP-ACFP aparentam ter a capacidade de compensar por remineralização, o tecido dentário perdido por erosão, recuperando a microdureza inicial. Enquanto que, a capacidade de remineralização do fluoreto de sódio não supera a desmineralização promovida pela erosão. Assim, a primeira hipótese nula é rejeitada.

Contrariamente a segunda hipótese nula é aceite, dado que as forças de adesão das restaurações diretas a esmalte erodido remineralizado com uma pasta de CPP-ACFP ou uma pasta de fluoreto de sódio são iguais às forças de adesão de restaurações diretas a esmalte erodido não remineralizado. Desta forma, é possível concluir que a remineralização prévia do esmalte erodido não influencia as forças adesivas das restaurações diretas a resina composta.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alencar, C.R.B., Magalhães, A.C., Machado, M.A.A.M., Oliveira, T.M., Honório, H.M. & Rios, D. (2014). In situ effect of a commercial CPP-ACP chewing gum on the human enamel initial erosion. *Journal of Dentistry*, 42, 1502-1507. doi: 10.1016/j.jdent.2014.08.008
- Armstrong, S., Breschi, L., Özcan, M., Pfefferkorn, F., Ferrari, M. & Van Meerbeek, B. (2017). Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (μ TBS) approach. *Dental Materials*, 33(2), 133-143. doi: 10.1016/j.dental.2016.11.015
- Anausavice, K.J., Shen, C. & Rawls, H. R. (2013). *Phillips' Science of Dental Materials* (12ª Edição). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. ISBN: 978-1-4377-2418-9
- Attin, T. (2006). Methods for Assessment of Dental Erosion. *Monographs in Oral Science*, 20, 152-172. doi:10.1159/000093361
- Attin, T. & Wegehaupt, F.J. (2014). Impact of erosive conditions on tooth-colored restorative materials. *Dental Materials*, 30(1), 43-49. doi: 10.1016/j.dental.2013.07.017
- Buzalaf, M. A. R., Hannas, A. R. & Kato, M. T. (2012). Saliva and dental erosion. *Journal of Applied Oral Science*, 20(5), 493-502. doi:10.1590/S1678-77572012000500001
- Carvalho, T.S., Baumann T. & Lussi, A. (2016). In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion. *Clinical Oral Investigations*, 20, 1973-1979. doi: 10.1007/s00784-015-1703-1

- Carvalho, T.S., Colon, P., Ganss, C., Huysmans, M-C., Lussi, A., Schlueter, N. ... Wiegand, A. (2015). Consensus Report of the European Federation of Conservative Dentistry: Erosive tooth wear diagnosis and management. *Clinical Oral Investigations*, 19 (7), 1557-1561. doi: 10.1007/s00784-015-1511-7
- Casas-Apayco, L.C., Dreibi, V.M., Hipólito, A.C., Graeff, M.S.Z., Rios, D., Magalhães, A.C. ... Wang, L. (2014). Erosive cola-based drinks affect the bonding to enamel surface: an in vitro study. *Journal of Applied Oral Science*, 22(5), 434-441. doi: 10.1590/1678-775720130468
- Castro, M.C.C., Sadek, F.T., Batitucci, E. & Miranda, M.S. (2014). The effect of disk type and cutting speed on the micro-tensile bond strength of ceramic specimens to resin cement. *Dental Materials Journal*, 33(6), 770-777. doi:10.4012/dmj.2013-160
- Chang, Y-E. & Shin, D-H. (2010). Effect of Chlorhexidine Application Methods on Microtensile Bond Strength to Dentin in Class I Cavities. *Operative Dentistry*, 35(6), 618-623. doi: 10.2341/09-360-L
- Cochrane, N. J., Saranathan, S., Cai, F., Cross, K. J. & Reynolds, E. C. (2008). Enamel subsurface lesion remineralization with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Research*, 42, 88–97. doi: 10.1159/000113161
- Colon, P., & Lussi, A. (2014). Minimal intervention dentistry: part 5. Ultra-conservative approach to the treatment of erosive and abrasive lesions. *British Dental Journal*, 216(8), 463-468. doi: 10.1038/sj.bdj.2014.328
- Cross K.J., Huq N.L., Reynolds E.C. (2007). Casein phosphopeptides in oral health – chemistry and clinical applications. *Current Pharmaceutical Design*, 13 (8), 793–800. doi: 10.2174/138161207780363086

- Davari, A., Daneshkazemi, A., Behniafar, B. & Sheshmani, M. (2014). Effect of Pre-heating on Microtensile Bond Strength of Composite Resin to Dentin. *Journal of Dentistry of Tehran University of Medical Sciences*, 11 (5), 569-575. Disponível em: <http://jdt.tums.ac.ir/index.php/jdt/article/viewFile/384/360>
- Divyapriya, G.K., Puja, C.Y. & Veeresh, D.J.(2016). Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate in dentistry: An update. *International Journal of Oral Health Sciences*, 6 (1), 18-25. doi: 10.4103/2231-6027.186660
- Fejerskov, O. Nyvad, B. & Kidd, E. (2015). *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management* (3ª edição). Oxford: Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-118-93582-8
- Fonseca, R.B., Haiter-Neto, F., Carlo, H.L., Soares, C.J., Sinhoreti, M.A.C., Puppini-Rontani, R.M. & Correr-Sobrinho, L. (2008). Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine teeth age. *Archives of Oral Biology*, 53, 1023-1029. doi: 10.1016/j.archoralbio.2008.06.012
- Ganss, C. & Lussi, A. (2014). Diagnosis of erosive tooth wear. *Monographs in Oral Science*, 25, 22-31. doi:10.1159/000359935
- Giacomini, M.C., Casas-Apayco, L.C., Machado, C.M., Freitas, M.C.C.A., Atta, M.T. & Wang, L. (2016). Influence of Erosive and Abrasive Cycling on Bonding of Different Adhesive Systems Enamel: An In situ Study. *Brazilian Dental Journal*, 27 (5), 548-555. doi: 10.1590/0103-6440201600940.
- Gierthmuehlen, P.C.G. & Steger, E. (2016). CAD/CAM Solutions for Minimally Invasive All-Ceramic Rehabilitation of Extended Erosive Lesions. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 37 (5), 340-345. Disponível em: <https://www.dentalaegis.com/cced/2016/05/cadcam-solutions-for-minimally-invasive-all-ceramic-rehabilitation-of-extended-erosive-lesions>

- Hannig, C., Becker, K., Häusler, N., Hoth-Hannig, W., Attin, T. & Hannig, M. (2007). Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion - an *ex vivo* pilot study. *Archives of Oral Biology*, 52, 444-449. doi:10.1016/j.archoralbio.2006.10.015
- Hara, A. T. & Zero, D. T. (2014). The Potential of Saliva in Protecting against Dental Erosion. *Monographs in Oral Science*, 25, 197-205. doi: 10.1159/000360372
- Heymann, H.O., Swift, E.J. & Ritter, A.V. (2013). *Studivant's Art and Science of Operative Dentistry* (6ª edição). St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby. ISBN: 978-0-3230-8333-1
- Hilton, T.J., Ferracane, J.L. & Broome, J.C. (2013). *Summitt's Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach* (4ª edição). Hanover Park, IL: Quintessence Publishing Co Inc. ISBN: 978-0-86715-528-0
- Huysmans, M-C. , Young, A. & Ganss, C. (2014). The role of fluoride in erosion therapy. *Monographs in Oral Science*, 25, 230-243. doi: 10.1159/000360555
- Jayasudha, Baswaraj, Navin, H.K. & Prasanna, K.B. (2014). Enamel regeneration-current progress and challenges. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8 (9), ZE06-9. doi: 10.7860/JCDR/2014/10231.4883
- Kwak, S.Y., Litman, A., Margolis, H.C., Yamakoshi, Y. & Simmer, J.P. (2017). Biomimetic Enamel Regeneration Mediated by Leucine-Rich Amelogenin Peptide. *Journal of Dental Research*, 96 (5), 524-530. doi: 10.1177/0022034516688659
- Lennon, Á.M., Peffer, M., Buchalla, W., Becker, K., Lennon, S. & Attin, T. (2006). Effect of a casein/calcium phosphate-containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. *Caries Research*, 40, 154-157. doi: 10.1159/000091063

- Llena, C., Leyda, A.M. & Forner, L. (2015). CPP-ACP and CPP-ACFP versus fluoride varnish in remineralisation of early caries lesions - A prospective study. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 16(3), 181-186. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283899500_CPP-ACP_and_CPP-ACFP_versus_fluoride_varnish_in_remineralisation_of_early_caries_lesions_A_prospective_study
- Lussi, A. & Jaeggi, T. (2008). Erosion - diagnosis and risk factors. *Clinical Oral Investigations*, 12 (1), S5-S13. doi: 10.1007/s00784-007-0179-z
- Lussi, A., Schlueter, N., Rakhmatullina, E. & Ganss, C. (2011). Dental Erosion – An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological Aspects. *Caries Research*, 45(1), 2-12. doi: 10.1159/000325915
- Magne, P. & Belser, U. (2003). *Bonded porcelain restorations in the anterior dentition: a biomimetic approach*. Carol Stream, IL: Quintessence Publishing Co, Inc. ISBN: 0-86715-422-5
- Mahesuti, A., Duan, Y.I., Wang, G., Cheng, X. R. & Matis, B. A. (2014). Short-term Efficacy of Agents containing KNO₃ or CPP-ACP in Treatment of Dentin Hypersensitivity. *The Chinese Journal of Dental Research*, 17(1), 43-47. doi: 10.3290/j.cjdr.a32435
- Malta, D.A.M.P., Magne, P. & Monteiro-Junior, S. (2014). Bond Strength and Monomer Conversion of Indirect Composite Resin Restorations, Part 1: Light vs Heat Polymerization. *Journal of Adhesive Dentistry*, 16 (6), 517-522. doi:10.3290/j.jad.a33199
- Manuja, N., Nagpal, R. & Pandit, I.K. (2012). Dental Adhesion: Mechanism, Techniques and Durability. *Journal of clinical pediatric dentistry*, 36(3), 223-234. doi:10.17796/jcpd.36.3.68805r11r037m063

- Marshall, S.J., Bayne, S.C., Baier, R., Tomsia, A.P. & Marshall, G.W. (2010). A review of adhesion science. *Dental Materials*, 26, e11-e16. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.157
- Miyazaki, M., Tsujimoto, A., Tsubota, K., Takamizawa, T., Kurokawa, H. & Platt, J.A. (2014). Important compositional characteristics in the clinical use of adhesive systems. *Journal of Oral Science*, 56(1), 1-9. doi: 10.2334/josnusd.56.1.
- Moosavi, H. & Darvishzadeh, F. (2016). The Influence of Post Bleaching Treatments in Stain Absorption and Microhardness. *The Open Dentistry Journal*, 10, 69-78. doi:10.2174/1874210616021000069
- Naveena, P., Nagarathana, C. & Sakunthala, BK. (2014). Remineralizing Agent -Then and Now -An Update. *Dentistry* 4(9). doi: 10.4172/2157-7633.1000256
- Neel, E.A.A., Aljabo, A., Strange, A., Ibrahim, S., Coathup, M., Young, A.M. ... Mudera, V. (2016). Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 4743-4763. doi:10.2147/IJN.S107624
- O'Brien, W.J. (2008). *Dental Materials and their selection*. (4ª edição). Hanover Park, IL: Quintessence Publishing Co, Inc. ISBN: 978-0-86715-437-5
- Oliveira, T.A., Scaramucci, T., Nogueira, F.N., Simões, A. & Sobral, M.A.P. (2015). Effect of mouthrinses with different active agents in the prevention of initial dental erosion. *Indian Journal of Dental Research*, 26 (5), 508-513. doi:10.4103/0970-9290.172052
- Passos, V.F. & Santiago, S.L. (2014). Methodologies to analyse the micromorphological alterations of enamel subjected to abrasion/erosion. *Dentistry*, 4. doi: 10.4172/2161-1122.1000255

- Perdigão, J., Kose, C., Mena-Serrano, A.P., De Paula, E.A., Tay, L.Y., Reis, A. & Loguercio, A.D. (2014). A new universal simplified adhesive: 18 month clinical evaluation. *Operative Dentistry*, 39(2), 113-127. doi: 10.2341/13-045-C
- Reema, S.D., Lahiri, P.K. & Roy, S.S. (2014). Review of Casein Phosphopeptides-Amorphous Calcium Phosphate. *The Chinese Journal of Dental Research*, 17(1), 7-14. doi:10.3290/j.cjdr.a32430
- Rees, J., Loyn, T. & Chadwick, B. (2007). Pronamel and tooth mousse: An initial assessment of erosion prevention in vitro. *Journal of Dentistry*, 35, 355-357. doi:10.1016/j.jdent.2006.10.005
- Reynolds, E.C. (Inventor).(1991). *Patente Estadunidense N° 5015628*. Washington, D.C.: US Patent and Trademark Office.
- Rios, D., Honório, H.M., Magalhães, A.C., Delbem, A.C.B., Machado, M.A.A.M., Silva, S.M.B. & Buzalaf, M.A.R. (2006). Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. *Caries Research*, 40, 218–223. doi: 10.1159/000092229
- Rizvi, A., Zafar, M.S., Al-Wasifi, Y., Fareed, W. & Khurshid, Z. (2016). Role of enamel demineralization and remineralization on microtensile bond strength of resin composite. *European Journal of Dentistry*, 10 (3), 376-380. doi: 10.4103/1305-7456.184167
- Sala, E.C. & García, P.B. (2013). *Odontología preventiva y comunitaria: principios, métodos y aplicaciones* (4ª edição). Barcelona: Elsevier Masson. ISBN: 978-84-458-2203-6
- Shellis, R.P. & Addy, M. (2014). The Interactions between Attrition, Abrasion and Erosion in Tooth Wear. *Monographs in Oral Science*, 25, 32-45. doi: 10.1159/000359936

- Shellis, R.P., Featherstone, J.D.B. & Lussi, A. (2014). Understanding the Chemistry of Dental Erosion. *Monographs in Oral Science*, 25, 163-179. doi:10.1159/000359943
- Scherrer, S.S., Cesar, P.F. & Swain, M.V. (2010). Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: A critical literature review. *Dental Materials*, 26 (2), e78-e93. doi: 10.1016/j.dental.2009.12.002.
- Smithson, J., Newsome, P., Reaney, D. & Owen, S. (2011). Direct or indirect restorations?. *International Dentistry- African Edition*, 1 (1), 70-80. Disponível em:http://www.moderndentistrymedia.com/may_june2011/smithson_newsome.pdf
- Srinivasan, N., Kavitha, M. & Loganathan, S.C. (2010). Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: an in situ study. *Archives of Oral Biology*, 55, 541–544. doi:10.1016/j.archoralbio.2010.05.002
- Somani, R., Jaidka, S., Singh, D.J. & Arora, V. (2014). Remineralizing potential of various agents on dental erosion. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 4 (2), 104-108. doi: 10.1016/j.jobcr.2014.05.001
- Teruel, J.D., Alcolea, A., Hernández, A. & Ruiz, A.J.O. (2015). Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Archives of Oral Biology*, 60, 768-775. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.01.014
- 3M ESPE (2005). *Filtek Supreme XT Universal Restorative System: Technical product profile*. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/media/6430700/filtek-supreme-xte-technical-profile-anz.pdf>
- 3M ESPE (2013). *ScotchbondTM Universal Adhesive: Technical product profile*. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/media/7547510/scotchbond-universal-adhesive-technical-product-profile.pdf>

- Van Meerbeek, B., Peumans, M., Poitevin, A., Mine, A. Van Ende, A., Neves, A. & De Munck, J. (2010). Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental Materials*, 26, e100-e121. doi:10.1016/j.dental.2009.11.148
- Vermelho, P.M., Reis, A.F., Ambrosano, G.M.B. & Giannini, M. (2017). Adhesion of multimode adhesives to enamel and dentin after one year of water storage. *Clinical Oral Investigations*, 21(5), 1707-1715. doi: 10.1007/s00784-016-1966-1
- Vieira, A., Jager, D.H.J., Ruben, J.L. & Huysmans, M.C.D.N.J.M. (2007). Inhibition of Erosive Wear by Fluoride Varnish. *Caries Research*, 41(1), 61-67. doi: 10.1159/000096107
- Vieira, A.M., Ruben, J.L., Bronkhorst, E.M. & Huysmans, M.C.D.N.J.M. (2011). In vitro Reduction of Dental Erosion by Low-Concentration TiF_4 Solutions. *Caries Research*, 45(2), 142-147. doi: 10.1159/000324805
- Wagner, A., Wendler, M., Petschelt, A., Belli, R. & Lohbauer, U. (2014). Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *Journal of Dentistry*, 42(7), 800-807. doi: 10.1016/j.jdent.2014.04.012
- Wiegand, A. & Attin, T. (2011). Design of erosion/abrasion studies – insights and rational concepts. *Caries Research*, 45(1), 53–59. doi: 10.1159/000325946
- Wiegand, A. & Attin, T. (2014). Randomised in situ trial on the effect of milk and CPP-ACP on dental erosion. *Journal of Dentistry*, 42, 1210-1215. doi: 10.1016/j.jdent.2014.07.009
- Zhu, J. J., Tang, A.T.H., Matinlinna, J.P. & Hägg, U. (2014). Acid etching of human enamel in clinical applications: A systematic review. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 112(2), 122-135. doi: 10.1016/j.prosdent.2013.08.024

VIII. ANEXOS

Anexo I

Composição:	Contra-indicações
Pure water; Glycerol; CPP-ACP; D-sorbitol; CMC-Na; Propylene glycol, Silicon Dioxide; Titanium Dioxide; Xylitol; Phosphoric acid; Sodium fluoride; Flavoring; Sodium saccharin; Ethyl p-hydroxybenzoate; Propyl p-hydroxybenzoate; Butyl p-hydroxybenzoate	<ul style="list-style-type: none">• Milk protein allergy• Hydroxybenzoates allergy



CPP-ACFP Lote: 160822S

Anexo II

Composição:

Sodium Bicarbonate; Aqua; Glycerin; Alcohol;
Cocamidopropyl Betaine; Krameria Trianda
Extract; Echinacea Purpurea Flower/Leaf/
Stem Juice; Aroma; Xanthan Gum,
Chamomilla Recutita Extract, Commiphora
Myrrha Extract; Sodium Fluoride; Sodium
Saccharin; Salvia Officinalis Oil; Mentha
Piperita Oil; Mentha Arvensis Oil; Limonene;
Linalool; CI77491



**Pasta de fluoreto de sódio
(1400ppm de flúor)
Lote: 6308BKWB**

Anexo III

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 583

Ex.ma Senhora
Rita Montenegro Romeu

Monte de Caparica, 27 de setembro de 2017.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Influência da remineralização do esmalte dentário erodido com nanocomplexos fluoretados derivados da caseína (CPP-ACFP) nas forças adesivas de restaurações indiretas aderidas com resina composta aquecida”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Prof.ª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita