



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL EROSIVO DE TRÊS FÁRMACOS SOBRE O ESMALTE HUMANO E SUAS CONSEQUENTES ESTRATÉGIAS DE REMINERALIZAÇÃO - ESTUDO IN VITRO

Trabalho submetido por
Ana Filipa Mendes da Silva Neto
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Junho de 2015



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL EROSIVO DE TRÊS FÁRMACOS SOBRE O ESMALTE HUMANO E SUAS CONSEQUENTES ESTRATÉGIAS DE REMINERALIZAÇÃO - ESTUDO IN VITRO

Trabalho submetido por
Ana Filipa Mendes da Silva Neto
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Doutora Ana Cristina Manso

e coorientado por
Doutora Ana Vieira e Doutora Patrícia Carvalho

Junho de 2015

Agradecimentos

À Prof. Doutora Ana Cristina Manso pelo rigor, profissionalismo e disponibilidade demonstrados desde o início, por todos os ensinamentos, pela confiança que depositou em mim e por todos os conselhos que foram essenciais para este trabalho.

À Prof. Doutora Ana Vieira e à Prof. Doutora Patrícia Carvalho por todo o apoio na realização deste trabalho.

Ao ISCSEM e à Cooperativa Egas Moniz, CRL pela cedência de todas as instalações.

Ao Professor Doutor José Martins dos Santos pela cedência do Laboratório de Morfologia.

Ao Prof. Doutor Mário Polido pela cedência do Laboratório de Biomateriais.

Aos meus pais, pelo amor, apoio incondicional e incentivo, por me ensinarem essa vontade constante de querer fazer sempre melhor.

Às minhas avós Elisa e Odete, por serem um porto seguro, e ao meu avô José que, mesmo não estando, foi essencial.

À Rita, pela amizade, boa disposição e entusiasmo ao longo destes anos.

Ao Gonçalo, por todo o amor, carinho e paciência infinita.

Resumo

Objetivos – Comparar: (a) o potencial erosivo de três fármacos sobre o esmalte humano e (b) a dureza de superfície do esmalte após a aplicação de um verniz de flúor a alta concentração *in vitro*.

Materiais e Métodos – Foram selecionados 22 molares humanos intactos. Cada coroa foi cortada em 4, originando 88 amostras que foram aleatoriamente alocadas em 8 subgrupos: A1 (Ventilan[®]), A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor), B1 (Claritine[®]), B2 (Claritine[®] com verniz de flúor), C1 (Vicks[®]), C2 (Vicks[®] com verniz de flúor), D1 (controle) e D2 (controle com verniz de flúor). O protocolo de imersão simulou um número comum de tomas dos medicamentos. Foi determinado o pH e a acidez titulável de cada fármaco. A superfície do esmalte foi analisada por lupa estereomicroscópica, MEV e teste de dureza de Vickers. Na análise estatística, usaram-se os testes ANOVA one-way e de Bonferroni.

Resultados – Todos os fármacos possuem ácido cítrico e pH ácido inferior a 5,5, variando entre 3,08 (Claritine[®]) e 5,15 (Vicks[®]). A acidez titulável divergiu entre 85 mmol/L (Ventilan[®]) e 25 mmol/L (Vicks[®]). A maior desorganização topográfica foi encontrada no subgrupo B1. Os subgrupos A1, B1 e C1 revelaram uma prevalência de lesões erosivas > 50%, com uma diminuição significativa da dureza de superfície face ao D1 ($p < 0,05$). Os subgrupos A2, B2 e C2 demonstraram uma redução significativa da dureza em comparação com o D2 ($p < 0,05$). A dureza dos subgrupos com flúor foi significativamente superior aos homólogos sem flúor ($p < 0,05$). Não houve uma redução de dureza significativa no subgrupo C2 face ao D1 ($p = 0,174$).

Conclusões – O Claritine[®] detém o maior potencial erosivo, seguido pelo Ventilan[®] e Vicks[®], respetivamente. As lesões provocadas pelo Vicks[®] aparentam ter o maior potencial de remineralização, seguidas pelas do Ventilan[®] e Claritine[®], respetivamente.

Palavras-chave - erosão, esmalte, fármacos, verniz de flúor

Abstract

Goals – To compare: (a) the erosive potential of three medicines on human enamel and (b) the surface hardness after applying a high concentration fluoride varnish *in vitro*.

Materials and Methods - 22 intact human molars were selected. Each crown was cut into 4 portions, generating 88 samples which were randomly assigned to 8 subgroups: A1 (Ventilan[®]), A2 (Ventilan[®] with fluoride varnish), B1 (Claritine[®]), B2 (Claritine[®] with fluoride varnish), C1 (Vicks[®]), C2 (Vicks[®] with fluoride varnish), D1 (control) and D2 (control with fluoride varnish). The immersion protocol simulated a common intake of the medications. The pH value and titratable acidity of each drug was determined. The enamel surface was analyzed by magnifying stereomicroscope, SEM and Vickers hardness test. Relating to statistic analysis, ANOVA one-way and Bonferroni were the tests used.

Results - All drugs feature citric acid and an acidic pH value below 5.5, ranging from 3.08 (Claritine[®]) to 5.15 (Vicks[®]). The titratable acidity diverged between 85 mmol/L (Ventilan[®]) and 25 mmol/L (Vicks[®]). Most topographic disruption was found in subgroup B1. The subgroups A1, B1 and C1 revealed a prevalence of erosive lesions above 50%, with a significant decrease in surface hardness compared to D1 ($p < 0.05$). The subgroups A2, B2 and C2 showed a significant reduction in hardness compared to D2 ($p < 0.05$). The hardness of the fluoride subgroups was significantly higher than the non-fluorinated counterparts ($p < 0.05$). The decrease in hardness of C2 was not significant in comparison with D1 ($p = 0.174$).

Conclusions - Claritine[®] has the highest erosive potential, followed by Ventilan[®] and Vicks[®], respectively. The erosive lesions caused by Vicks[®] appear to hold the greatest potential for remineralization, followed by those of Ventilan[®] and Claritine[®], respectively.

Palavras-chave – erosion, enamel, medicines, fluoride varnish

Índice Geral

I) Introdução	15
A) Esmalte Humano	18
1 – Constituição e Propriedades Químicas	18
2 – Microestrutura	20
3 – Anatomia de Superfície	20
4 – Propriedades Mecânicas	21
5 – Papel da Saliva na Proteção do Esmalte	24
B) Erosão Dentária	27
1 – Definição.....	27
2 – Aspectos Químicos.....	28
3 – Aspectos Histológicos	29
4 - Classificação Segundo os Fatores Etiológicos	30
5 – Potencial Erosivo	32
6 – Prevalência	38
7 – Incidência	39
8 – Manifestações Clínicas	40
9 - Distribuição	41
10 – Diagnóstico e Índices de Classificação	41
11 – Prevenção e Remineralização das Lesões Erosivas	42
C) Pertinência do Estudo	44
D) Objetivos	45
E) Hipóteses nulas	45
II) Materiais e Métodos.....	46
A) Desenho do Estudo e Local do Estudo	46
B) Seleção da Amostra	46
C) Polimento da Amostra.....	47
D) Acrilização e Secção dos Dentes.....	47
E) Aleatorização da Amostra.....	48
F) Caracterização dos Fármacos	49
G) Determinação do pH e da Acidez Titulável	49
H) Protocolo de Desmineralização e de Remineralização	51
I) Análise da Superfície do Esmalte	52

1 - Observação à Lupa Estereromicroscópica	52
2 - Observação ao Microscopio Eletrónica de Varrimento.....	53
3 - Teste de Microdureza de Vickers	54
J) Análise Estatística.....	55
III) Resultados	56
A) Caracterização dos Fármacos	56
B) Comparação das Propriedades Químicas dos Fármacos	58
C) Análise da Superfície à Lupa Esteromicroscópica	59
D) Análise da Superfície ao Microscópio Eletrónico de Varrimento.....	63
E) Teste de Microdureza de Vickers	80
IV) Discussão	82
A) Caracterização dos Fármacos	82
B) Comparação das Propriedades Químicas dos Fármacos	84
C) Análise da Superfície à Lupa Esteromicroscópica	86
D) Análise da Superfície ao Microscópio Eletrónico de Varrimento.....	87
E) Teste de Microdureza de Vickers	90
F) Limitações do Estudo	92
G) Perspetivas Futuras.....	92
V) Conclusões	93
VI) Bibliografia	94

Índice de Imagens

Figura 1 – Diferentes estágios no processo erosivo: amolecimento inicial do esmalte (sem perda de substância) (esquerda), perda de substância (desgaste erosivo) e amolecimento da superfície subjacente (centro) e exposição dentinária (direita). Imagem retirada de Schlueter, Jaeggi & Lussi (2012), com a permissão do Prof. Dr. Adrian Lussi e do <i>Journal of Dental Research</i>	28
Figura 2 – Corte de um dente na máquina de precisão Accutom-50 [®] (Struers)	47
Figura 3 – Xaropes dos grupos de estudo: Ventilan [®] (esquerda), Claritine [®] (centro) e Vicks [®] (direita)	48
Figura 4 – Pesagem de 20g de cada fármaco	48
Figura 5 – Titulação ácida de um fármaco	49
Figura 6 – Protocolo laboratorial de desmineralização e remineralização	50
Figura 7 – Máquina LaboPol-4 [®] (Struers) e disco de polimento	52
Figura 8 – Máquina HSV-30 [®] (Shimadzu)	54
Figura 9 – Exemplo de medição de dureza	54
Figura 10 – Exemplo de 5 indentações numa amostra	54
Figura 11 – Fotografias representativas dos subgrupos sem verniz de flúor: a) subgrupo A1; b) subgrupo B1; c) subgrupo C1; d) subgrupo D1.....	61
Figura 12 – Fotografias representativas dos subgrupos com verniz de flúor: a) subgrupo A2; b) subgrupo B2; c) subgrupo C2; d) subgrupo D2.....	62
Figura 13 – Subgrupo A1 (Ventilan [®] sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido, sendo evidente o aumento da desorganização da superfície	63
Figura 14 - Subgrupo A1 (Ventilan [®] sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido. É notória a presença de microcracks (setas) e a formação de crateras profundas.....	64
Figura 15 – Subgrupo A1 (Ventilan [®] sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, sendo notória a perda do aspeto nebuloso. A generalidade da superfície é mais rugosa devido à exposição parcial dos cristais de esmalte. As regiões de aspeto mais uniforme correspondem à permanência de matéria orgânica interprismática (setas)	64

Figura 16 – Subgrupo A1 (Ventilan [®] sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido. É notória a desmineralização da superfície com a exposição parcial dos cristais de esmalte	65
Figura 17 – Subgrupo B1 (Claritine [®] sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido, sendo evidente a elevada desorganização da superfície e a presença de crateras múltiplas.....	65
Figura 18 – Subgrupo B1 (Claritine [®] sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido. É notória a elevada desmineralização central, com a remoção da camada orgânica e exposição dos cristais de esmalte, em contraste com as regiões periféricas de aspeto mais escamoso.....	66
Figura 19 – Subgrupo B1 (Claritine [®] sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, sendo evidente a acentuada desmineralização com exposição parcial dos cristais de esmalte. Ainda é possível detetar regiões de conservação de matéria orgânica.	66
Figura 20 – Subgrupo B1 (Claritine [®] sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte	67
Figura 21 – Subgrupo C1 (Vicks [®] sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido, sendo evidente a elevada desorganização da superfície	67
Figura 22 – Subgrupo C1 (Vicks [®] sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte	68
Figura 23 – Subgrupo C1 (Vicks [®] sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte e à permanência de alguma matéria orgânica interprismática (setas)	68
Figura 24 – Subgrupo C1 (Vicks [®] sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte que apresentam diferentes orientações	69
Figura 25 - Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte não erodido, sendo evidente a microrugosidade natural do mesmo.....	69
Figura 26 – Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte não erodido, sendo evidente a microrugosidade natural do mesmo.....	70
Figura 27 – Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido, sendo evidente a microrugosidade natural	70

Figura 28 – Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido, evidenciando a sua aparência nebulosa. Não há evidência de exposição dos cristais de esmalte.	71
Figura 29 – Subgrupo A2 (Ventilan [®] com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, com remineralização generalizada da superfície, evidenciada pela oclusão interprismática de flúor. De notar também a presença de microcracks (setas) e de crateras ocasionais.	72
Figura 30 – Subgrupo A2 (Ventilan [®] com verniz de flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada da superfície. Apesar dos cristais se encontrarem expostos, a grande maioria encontra-se íntegra. De notar os cristais com diferentes orientações que formam uma cratera profunda (setas). 72	
Figura 31 – Subgrupo A2 (Ventilan [®] com verniz de flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. Apesar dos cristais se encontrarem expostos, a grande maioria encontra-se íntegra. De notar a existência de alguns cristais fraturados (seta negra) e de cristais com orientações distintas (setas brancas)	73
Figura 32 – Subgrupo A2 (Ventilan [®] com verniz de flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada pela intergidade dos cristais de esmalte. De as diferentes orientações dos cristais	73
Figura 33 – Subgrupo B2 (Claritine [®] com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada	74
Figura 34 – Subgrupo B2 (Claritine [®] com verniz de flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. É notória a presença de várias lacunas entre os cristais, assim como a conservação de alguma matéria orgânica	74
Figura 35 – Subgrupo B2 (Claritine [®] com verniz de flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. É notória a presença de várias lacunas entre os cristais (setas negras), assim como a conservação de alguma matéria orgânica (setas brancas).....	75
Figura 36 – Subgrupo B2 (Claritine [®] com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia em pormenor dos cristais de esmalte, com ênfase às diferentes orientações dos mesmos	75
Figura 37 – Subgrupo C2 (Vicks [®] com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada.	76

Figura 38 – Subgrupo C2 (Vicks® com verniz de flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada.	76
Figura 39 – Subgrupo C2 (Vicks® com verniz de flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. A superfície é organizada e os cristais revelam-se íntegros com uma orientação semelhante entre si..	77
Figura 40 – Subgrupo C2 (Vicks® com verniz de flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor dos cristais de esmalte. De notar a orientação semelhante da generalidade dos cristais, assim como a conservação de uma bainha de matéria orgânica em redor dos mesmos.....	77
Figura 41 - Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor, sendo evidente a microrugosidade natural da superfície. Também se identifica a presença de uma fratura de tensão por desidratação (seta)	78
Figura 42 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor de alta concentração	78
Figura 43 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor, sendo clara a manutenção da integridade da superfície	79
Figura 44 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor. É visível uma camada de fluoreto de cálcio (reservatório de flúor solúvel) de aparência globular.....	79
Figura 45 – Gráfico comparativo das medições de dureza do esmalte nos respetivos subgrupos	81

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Critérios de avaliação do desgaste erosivo (Basic Erosive Wear Examination)	41
Tabela 2 – Critério patognômico para a avaliação do Índice da Erosão Dentária	53
Tabela 3 – Comparação das características dos fármacos	57
Tabela 4 – Comparação das propriedades químicas dos fármacos.....	58
Tabela 5 – Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo A, segundo o Índice da Erosão Dentária	59
Tabela 6 - Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo B, segundo o Índice da Erosão Dentária	59
Tabela 7 - Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo C, segundo o Índice da Erosão Dentária	60
Tabela 8 - Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo D, segundo o Índice da Erosão Dentária	60
Tabela 9 – Moda e prevalência das lesões de erosão dos subgrupos sem flúor, por localização	61
Tabela 10 – Moda e prevalência das lesões de erosão dos subgrupos com flúor, por localização	62
Tabela 11 – Medidas descritivas dos diferentes subgrupos	80

Lista de Abreviaturas

$\approx$ - aproximadamente igual

d – desvio

Fig. – figura

F – força

g – grama

gF – grama-força

$^{\circ}$ - grau

$^{\circ}\text{C}$ – grau Celsius

h – hora

$<$ - inferior a

JAC – junção amelogimentária

$\pm$ - mais ou menos

MPa – megaPascais

μm – micrómetro

μm^2 – micrómetro quadrado

MEV – microscópio eletrônico de varrimento

mA – miliAmpere

mg/mL – miligrama por mililitro

mL - mililitro

mL/min – mililitro por minuto

mm – milímetro

mmol/L – milimol por litro

min – minuto

M – molar

nm – nanómetro

N – Newton

HV – número de dureza de Vickers

ppm – partes por milhão

$\%$ - por cento

d^2 – quadrado da diagonal

Kg - quilograma

kV – quilovolt

rpm – rotações por minuto

$>$ - superior a

x – vezes

I – Introdução

O interesse da comunidade científica na erosão dentária e noutras formas de desgaste dentário tem aumentado, desde os anos 90 (Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). Até esta época, a erosão foi considerada uma condição de pouco interesse na prática clínica, na saúde oral comunitária ou mesmo no campo da investigação (Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). Se por um lado, o seu diagnóstico precoce era difícil e pouco frequente (Wang & Lussi, 2010; Lussi & Carvalho, 2014), uma vez que era associada a poucos sinais e sintomas (Wang & Lussi, 2010; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012), por outro, como as opções de tratamento eram limitadas, pouco se podia fazer para intervir na sua progressão (Wang & Lussi, 2010; Lussi & Carvalho, 2014).

Ao longo dos anos, tem-se verificado um aumento progressivo no número de investigações e artigos publicados sobre a erosão dentária (Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). Usando as palavras-chave “tooth erosion” no Pubmed pode comprovar-se que, em 1970, apenas 5 artigos haviam sido divulgados, tendo este número subido para quase 60 estudos no ano de 2000 (Lussi & Carvalho, 2014). Já em 2014, este número aumentou consideravelmente, atingindo 216 novas publicações.

A sucessão de estudos realizados contribuiu fortemente para uma melhor percepção acerca deste fenómeno. Actualmente, a erosão é aceite como uma condição de etiologia multifactorial, coexistindo uma compreensão acerca dos processos químicos e histológicos envolvidos (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012). Os critérios clínicos de diagnóstico e os índices de classificação da erosão têm sido constantemente aperfeiçoados, o que permitiu o diagnóstico precoce das lesões (Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). Os antigos índices eram demasiadamente complexos, dificultando a comparação entre estudos (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou 2011; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012). Neste sentido, foram desenvolvidos novos sistemas de classificação mais reprodutíveis, convenientes e exatos, como o Basic Erosive Wear Examination (Dixon et al., 2012; Wang & Lussi, 2012; Lussi & Hellwig, 2014). Hoje, este índice é largamente aceite pela sua elevada sensibilidade e especificidade (Margaritis, Mamai-Homata,

Koletsis-Kounari & Polychronopoulou, 2011; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Ganss & Lussi, 2014).

Estudos recentes apontam para o preocupante aumento da prevalência da erosão dentária, especialmente em crianças e adolescentes (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Jaeggi & Lussi, 2014; Salas, Nascimento, Huysmans & Demarco, 2014; West & Joiner, 2014). A mudança dos hábitos alimentares e de estilo de vida (aumento do consumo de bebidas e alimentos ácidos) tem sido apontada como uma das principais causas deste fenômeno (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Jaeggi & Lussi, 2014).

Outra causa de elevada importância é a administração de medicações potencialmente erosivas (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). A literatura recente tem alertado para a acidez intrínseca das formulações farmacêuticas, assim como para os seus efeitos secundários (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). As propriedades químicas dos fármacos (pH, acidez titulável, capacidade tampão, tipo de ácido presente e grau de saturação em relação às estruturas dentárias), assim como outros fatores de importância (viscosidade, duração da exposição, velocidade do fluxo e temperatura) têm sido envolvidos na predição do potencial erosivo do medicamento (Barbour, Lussi & Shellis, 2011; Shellis, Featherstone, & Lussi, 2014; Lussi & Hellwig, 2014).

O aumento da prevalência de algumas doenças respiratórias crônicas (como a asma), estados alérgicos e outras condições comuns recorrentes (tosse, gripe e constipações) tem levado a um acréscimo na prescrição de medicamentos no sentido de controlar estas doenças (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Cavalcanti et al., 2012; Xavier et al., 2013; Nankar et al., 2014). Acredita-se que a asma afete mais de 300 milhões de pessoas a nível mundial, sendo previsto um aumento de 100 milhões de indivíduos em 2025 (Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010). Por outro lado, 30 a 40% da população mundial é afetada por uma ou mais condições alérgicas (Pawankar, Canonica, Holgate & Lockey, 2011). Já a gripe e os seus sintomas associados afetam anualmente cerca de 5 a 10% dos adultos e 20 a 30% das crianças em todo o mundo (World Health Organization, 2014).

Apesar de muitas medicações serem recomendadas por curtos períodos de tempo, alguns indivíduos portadores de doenças crônicas precisam de uma administração diária a longo prazo para prevenir o reaparecimento dos sintomas (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Nankar et al., 2014). A toma frequente destas medicações pode originar problemas significativos na saúde oral, a nível mundial (Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010). A irreversibilidade das lesões erosivas severas compromete a dentição e requer tratamentos reabilitadores dispendiosos, pelo que as estratégias preventivas são vitais (Wang & Lussi, 2010; Lussi & Carvalho, 2014). Desta forma, é necessário analisar de forma minuciosa os potenciais efeitos de tais medicações (Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010).

Assim, justifica-se a ideia deste estudo e dos seus objectivos no sentido do mesmo avaliar o potencial erosivo de três medicamentos frequentemente prescritos (Ventilan[®], Claritine[®] e Vicks[®]), bem como a possibilidade de remineralização das suas lesões erosivas correspondentes, sobre o esmalte humano.

A) Esmalte Humano

1 – Constituição e Propriedades Químicas

O esmalte dentário é um tecido acelular altamente mineralizado de origem ectodérmica (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; West & Joiner, 2014). É constituído por cristais de hidroxiapatite, água e matriz orgânica (Lawrence-Young et al., 2011; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014).

1.1 - Cristais de Hidroxiapatite

O principal componente mineral do esmalte é constituído por cristais de hidroxiapatite, cuja fórmula estequiométrica é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, perfazendo cerca de 88% do volume e 95-96% do peso (Lawrence-Young et al., 2011; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014; Omokanwaye, Wilson, Gugssa & Anderson, 2015). Cada célula cristalina é formada por um arranjo molecular que consiste num grupo hidroxilo rodeado por três iões cálcio que, por sua vez, estão rodeados por três iões fosfato. Os seis iões cálcio formam um hexágono que envolve os iões fosfato (Omokanwaye, Wilson, Gugssa & Anderson, 2015). O cristal de hidroxiapatite consiste em padrões repetidos destes arranjos, condensados lado a lado e empilhados por planos (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lawrence-Young et al., 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Os cristais do esmalte são longos e finos com aproximadamente 50 nm de largura e mais de 100 µm de comprimento, podendo atravessar a espessura total do esmalte (Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

A existência de inclusões de outros iões não pertencentes ao arranjo original torna os cristais de esmalte uma forma impura do mineral hidroxiapatite, denominada por hidroxiapatite carbonatada com défice de cálcio (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014). Alguns iões frequentemente incorporados incluem carbonato, sódio, fluoreto e magnésio (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lawrence-Young et al., 2011; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). A extensão das substituições iónicas não é constante ao longo de todo o

cristal, o que influencia as propriedades físicas e químicas do esmalte (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; West & Joiner, 2014; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

A inclusão de iões carbonato torna a hidroxiapatite um mineral mais solúvel em ácido, enquanto a inclusão de fluoreto tem o efeito oposto, originando fluorapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ que apresenta menor solubilidade (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014). A inclusão de carbonato é mais comum nos cristais internos, mas a inclusão de fluoreto ocorre preferencialmente à superfície (Laurance-Young et al., 2011; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Assim, a solubilidade do esmalte varia com a profundidade, aumentando da superfície para o interior do tecido (Laurance-Young et al., 2011; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011). Por outro lado, existe uma dissolução irregular quando o esmalte é submetido a ácidos, com a libertação preferencial de iões carbonato, sódio e magnésio (Laurance-Young et al., 2011; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

1.2 - Água

A água constitui cerca de 2% do peso do esmalte, correspondendo a 5-10% do seu volume (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Lussi, Schlueter, Rakmatulina & Ganss, 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Parte da água forma a camada de hidratação que envolve os cristais de esmalte ou o material orgânico, enquanto a outra parte pode estar apreendida em defeitos da estrutura cristalina (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014). A presença de água relaciona-se com a microporosidade do esmalte, de elevada importância para o fluxo de iões fluoreto e para a difusão de ácidos durante o processo erosivo (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014).

1.3 - Matriz Orgânica

O esmalte maturo contém apenas 1,2% por peso de matriz orgânica, sendo formada por proteínas de esmalte (amelogeninas e não-amelogeninas) e, em menor quantidade, algum componente lipídico (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

2 – Microestrutura

O esmalte apresenta uma microestrutura única, cuja unidade básica estrutural são os prismas de esmalte (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; West & Joiner, 2014). Os prismas percorrem toda a extensão do esmalte, iniciando o seu trajeto perpendicularmente à junção amelocimentária e culminando na superfície (Laurance-Young et al., 2011; West & Joiner, 2014). Cada prisma é constituído por milhões de pequenos cristais de hidroxiapatite fortemente compactados e alinhados, formando fileiras de 5-6 µm de diâmetro e até 2,5 mm de comprimento (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; West & Joiner, 2014). A rodear cada prisma encontra-se a área interprismática, cujos cristais têm uma orientação diferente (40-60° de desvio) e são responsáveis pela mudança no efeito ótico. Estas regiões periféricas têm maior microporosidade e maior conteúdo orgânico comparativamente aos prismas centrais (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; West & Joiner, 2014).

Quando observado em secção cruzada, o esmalte pode revelar três padrões prismáticos distintos. No padrão tipo I, os prismas são circulares e o esmalte é formado lentamente, sendo encontrado próximo da junção amelocimentária e da superfície. No padrão tipo II, os prismas estão alinhados em filas paralelas entre si. O padrão tipo III é o dominante no esmalte humano, cujos prismas têm uma aparência característica em buraco de fechadura. Assim, cada prisma possui uma zona mais oclusal, denominada por “cabeça”, e uma região mais cervical, denominada por “cauda”. Neste padrão, a cauda de um prisma está situada entre as cabeças dos prismas adjacentes. Enquanto os cristais da cabeça do prisma posicionam-se paralelamente ao longo eixo do prisma, os cristais que formam a cauda divergem entre 65-70° em relação ao longo eixo (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009).

3 – Anatomia de Superfície

O esmalte constitui a superfície externa da coroa do dente, mas a sua espessura não é uniforme (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Nelson, 2014; West & Joiner, 2014). Nas superfícies oclusais dos dentes posteriores e nos bordos incisais dos dentes anteriores, o esmalte apresenta maior profundidade, chegando a atingir 2,5 mm de espessura (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Nelson, 2014; West & Joiner, 2014). Já nas faces laterais, a espessura de esmalte é de aproximadamente 1,3 mm (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Nelson, 2014). A quantidade de esmalte diminui

progressivamente até à margem cervical, onde atinge a espessura mínima de 100 μm (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Nelson, 2014; West & Joiner, 2014). Esta quantidade mínima também é registada no fundo das fossas e fissuras. A espessura do esmalte varia entre indivíduos e entre dentes, aumentando do primeiro ao último molar (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Nelson, 2014; West & Joiner, 2014).

Devido a alterações no ritmo secretório, a composição e/ou a posição da frente de mineralização do esmalte é registada sob a forma de traços incrementais. Nas faces laterais, as estrias de esmalte atingem a superfície como uma série de sulcos finos horizontais que percorrem circularmente a coroa do dente, denominados periquimata. A frequência dos periquimata aumenta de oclusal para cervical, cuja distância entre dois sulcos é de 100 μm e 15-20 μm , respetivamente (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009).

4 – Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas do esmalte determinam a forma como este reage quando sujeito a algum tipo de força (West & Joiner, 2014). Estas propriedades incluem a elasticidade, a dureza, a viscoelasticidade e a resistência à fratura (Zhang, Du, Zhou & Yu, 2014). É sabido que o esmalte apresenta baixas forças de tensão e compressão, que são as causas da sua fragilidade (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; West & Joiner, 2014). No entanto, o seu elevado módulo de elasticidade e o suporte oferecido pela dentina subjacente, minimizam a possibilidade de fratura (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; West & Joiner, 2014). Por outro lado, apresenta boa resistência às forças de cisalhamento e de impacto, assim como alta dureza e resistência à abrasão (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; West & Joiner, 2014).

Inicialmente, o esmalte foi considerado como um material isotrópico, ou seja, que possuía as mesmas propriedades independentemente da direção da força aplicada. No entanto, vários estudos demonstraram que as suas propriedades mecânicas são anisotrópicas, variando não só em diferentes zonas do tecido, mas também em diferentes posições no mesmo prisma (Berkovitz, Holland & Moxham, 2009; Zhang, Du, Zhou & Yu, 2014). Desta forma, a densidade e a dureza do esmalte diminuem da superfície para a profundidade (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011).

4.1 – Dureza

O esmalte é o tecido mais duro e mineralizado do organismo humano (Nelson, 2014). A sua elevada dureza resiste à magnitude das forças mastigatórias, chegando a suportar 10 a 20 kg de impacto por dente (Satish, Shaleen, Mithilesh, Girish & Nidhee, 2010). Esta propriedade mecânica é uma das mais estudadas, sendo essencial para compreender o efeito de agentes nocivos na superfície do esmalte (Passos & Santiago, 2014). A dureza representa a resistência do esmalte à deformação permanente (indentação ou fratura) quando é aplicada uma força compressiva durante um determinado intervalo de tempo (Cecik-Nagas, Canay & Sahin, 2010; Anusavice, Shen & Rawls, 2013; Pelleg, 2013).

Ao longo dos anos têm sido desenvolvidos testes de dureza *in vitro* que permitem obter valores quantitativos da dureza dos materiais. Estes testes são amplamente usados não só pela rapidez, baixo custo e simplicidade na interpretação dos resultados, mas também por serem menos invasivos em comparação com outros métodos (Pelleg, 2013). Os testes de dureza superficiais podem ser classificados de acordo com a metodologia usada em ensaios por risco, ensaios por choque/ressalto ou ensaios por indentação (Herrmann, 2011). Devido à natureza deste estudo, será dado ênfase aos ensaios por indentação.

4.1.1 – Testes de Dureza por Indentação

Nestes testes, o material em estudo é submetido à pressão de um indentador de dureza superior (ponta de diamante ou safira) e de tamanho e forma conhecidos até que seja formada uma impressão microscópica característica (Cecik-Nagas, Canay & Sahin, 2010; Pelleg, 2013). A medição do comprimento ou da profundidade da indentação permitem quantificar a dureza do material: quanto mais “macio” for o material em estudo, maior será a área ou a profundidade da indentação formada (Herrmann, 2011; Passos, Melo, Vasconcelos, Rodrigues & Santiago, 2013; Pelleg, 2013; Passos & Santiago, 2014).

Relativamente aos diferentes testes de dureza por indentação salientam-se os testes de Brinell, Rockwell, Vickers, Knoop, Martens e Barcol (Herrmann, 2011; Anusavice, Shen & Rawls, 2013; Pelleg, 2013). Estes testes diferem no material do indentador, na sua geometria e na carga aplicada, pelo que a seleção do teste deve ser apropriada ao material em estudo (Herrmann, 2011; Anusavice, Shen & Rawls, 2013). Face aos

diferentes testes de dureza existentes, os testes de Vickers e de Knoop são os mais usados pela maioria dos investigadores para quantificar a dureza do esmalte humano (Schlueter, Hara, Shellis & Lussi, 2011; Passos, Melo, Vasconcelos, Rodrigues & Santiago, 2013; Passos & Santiago, 2014).

4.1.1.1 – Teste de Dureza de Vickers

Neste teste, uma carga conhecida é aplicada através de um indentador piramidal diamantado de base quadrada, cujo ângulo diedro entre duas faces é de 136° (Pelleg, 2013; Passos & Santiago, 2014). Após um determinado intervalo de tempo, o indentador é removido, deixando uma impressão na superfície da amostra (Pelleg, 2013; Passos & Santiago, 2014). A indentação resultante tem a forma de um losango, cujos vértices são detetados oticamente e permitem a determinação do comprimento médio das diagonais (Passos & Santiago, 2014). Os resultados são reportados em número de dureza de Vickers (Schlueter, Hara, Shellis & Ganss, 2011; Anusavice, Shen & Rawls, 2013; Pelleg, 2013).

O número de dureza de Vickers (HV ou VHN) é definido pelo produto da constante (1,8544) com a proporção entre força aplicada (gF) e a área da indentação (μm^2). A equação seguinte demonstra como o VHN aumenta com o aumento da dureza.

$$VHN = \frac{\text{constante} \times \text{força da indentação}}{\text{Quadrado da média da diagonal da indentação}}$$

$$VHN = 1854,4 \left(\frac{F}{d^2} \right)$$

De modo geral, o teste de Vickers é um teste versátil, que pode ser usado numa enorme variedade de materiais (Pelleg, 2013). Outra vantagem é que a leitura do comprimento das diagonais é mais fiável do que outros testes (Czichos, Saito & Smith, 2011; Pelleg, 2013). Além disto, na maioria dos casos, o pequeno tamanho das indentações não altera a função ou a aparência do material testado (Czichos, Saito & Smith, 2011; Pelleg, 2013). No entanto, o teste de Vickers também detém algumas desvantagens. Devido à mínima dimensão das indentações, o esforço para a preparação da amostra é maior, uma vez que tem de ser previamente polida para obter uma superfície lisa e perpendicular ao longo eixo do indentador (Czichos, Saito & Smith, 2011; Schlueter, Hara, Shellis & Ganss, 2011; Pelleg, 2013; Shellis, Ganss, Ren, Zero & Lussi, 2014).

5 – Papel da Saliva na Proteção do Esmalte

5.1 - Características da Saliva

A saliva é um líquido viscoso composto por mais de 99% de água e menos de 1% de sólidos, a maioria eletrólitos e proteínas (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015)

A saliva protege a estrutura dentária através de vários mecanismos, relacionados com as suas características de viscosidade ou com a presença de componentes específicos (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Entre as várias funções da saliva citam-se o efeito de lavagem do meio oral, a *clearance* de alimentos e bactérias, a diluição de detritos, a lubrificação das superfícies dentárias, a neutralização de ácidos, a manutenção da supersaturação em relação à hidroxiapatite, a formação da película adquirida de esmalte e a defesa antimicrobiana (Wang & Lussi, 2010; Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

5.2 - Composição inorgânica e grau de saturação

Na composição inorgânica da saliva, destacam-se o cálcio, o fosfato e o flúor. A maioria do cálcio salivar encontra-se sob a forma livre, sendo que cerca de 20% se encontra ligado a proteínas. Após a exposição a alimentos com elevado conteúdo em ácido cítrico, a concentração de citrato na saliva torna-se muito maior que a concentração de cálcio (Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Desta forma, a concentração de cálcio livre ionizado na saliva pode ser reduzida a valores muito menores que o estado basal, afetando a saturação em relação à hidroxiapatite e acelerando a desmineralização (Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

As formas ionizadas de cálcio e fosfato são especialmente importantes para o grau de saturação da saliva em relação à hidroxiapatite (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015; Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Quando a saliva está supersaturada em relação à hidroxiapatite, a remineralização poderá ocorrer (Wang & Lussi, 2010; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Pelo contrário, quando a saliva está subsaturada e relação às estruturas dentárias, a desmineralização será provável (Wang & Lussi, 2010; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Se a saliva estiver apenas saturada, não

ocorrerá desmineralização nem remineralização (Wang & Lussi, 2010; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

5.3 - Composição orgânica da saliva

Relativamente à composição inorgânica, a saliva é composta por vários tipos de proteínas e glicoproteínas que influenciam vários aspetos da saúde oral. As proteínas-ricas-em-prolina e as estaterinas têm um importante papel na remineralização do esmalte ao manter a saliva em supersaturação e ao inibir a precipitação espontânea de fosfato de cálcio nas glândulas salivares e suas secreções (Hara & Zero, 2014; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Já as histatinas foram identificadas como componentes da película adquirida *in vivo*, inibindo a desmineralização do esmalte (Siqueira, Margolis, Helmerhorst, Mendes & Oppenheim, 2010; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). As mucinas são glicoproteínas hidrofílicas que promovem a lubrificação e manutenção da hidratação do meio ambiente oral (Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Além disso, ao aumentarem a viscosidade salivar, produzem uma barreira física protetora contra a desmineralização dos tecidos dentários (Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Murray et al., 2012; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

5.4 – Película Adquirida

A película adquirida é uma camada orgânica livre de bactérias que se forma sobre as superfícies dentárias após a escovagem, dissolução química ou profilaxia (Wang & Lussi, 2010; Featherstone & Lussi, 2014). É composta por proteínas e glicoproteínas, incluindo várias enzimas (Wang & Lussi, 2010; Siqueira, Margolis, Helmerhorst, Mendes, & Oppenheim, 2010; Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Hannig & Hannig, 2014; Hara & Zero, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

A formação da película adquirida inicia-se segundos após a exposição da superfície dentária à saliva (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Hannig & Hannig, 2014; Vukosavljevic, Custodio, Buzalaf, Hara & Siqueira, 2014). Primeiro, ocorre a adsorção de proteínas salivares através de interações electroestáticas com regiões hidrofóbicas da superfície dentária (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Hannig & Hannig, 2014; Vukosavljevic, Custodio, Buzalaf, Hara & Siqueira, 2014). A espessura da película aumenta de 10 a 20 nm em alguns minutos, mantendo-se estável por aproximadamente

30 minutos (Hannig & Hannig, 2014; Vukosavljevic, Custodio, Buzalaf, Hara & Siqueira, 2014). Seguidamente ocorre a adsorção de agregados proteicos ou estruturas semelhantes a micelas em locais desocupados (Hannig & Hannig, 2014; Vukosavljevic, Custodio, Buzalaf, Hara & Siqueira, 2014).

A película adquirida protege o esmalte ao atuar como uma barreira de difusão com permeabilidade seletiva, prevenindo o contato direto dos ácidos com a superfície dentária e reduzindo a taxa de dissolução da hidroxiapatite (Wang & Lussi, 2010; Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Cheaib & Lussi, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Hannig & Hannig, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). É importante salientar que a composição, espessura e tempo de maturação da película adquirida definem o nível de proteção contra a erosão (Siqueira, Custodio & McDonald, 2012; Hannig & Hannig, 2014). Por um lado, a película atua como um reservatório de eletrólitos, disponíveis para a remineralização. Por outro, uma maior espessura e um maior tempo de maturação da película estão associados a uma maior resistência ácida (Siqueira, Custodio & McDonald, 2012; Hannig & Hannig, 2014).

5.5 - Capacidade tampão e regulação do pH

A desmineralização do esmalte pode ocorrer quando o pH salivar desce para valores inferiores ao pH crítico (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). A capacidade tampão da saliva é crucial para reduzir o tempo necessário para a normalização do pH salivar (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Descrevem-se em seguida os principais sistemas responsáveis pela regulação do pH salivar.

Acima do pH crítico (5.5), a capacidade tampão da saliva deve-se principalmente aos sistemas tampão fosfato e bicarbonato. O sistema tampão fosfato depende da presença de iões fosfato hidrogenado e dihidrogrenado que se encontram maioritariamente na saliva estimulada e não estimulada, respetivamente. Este sistema é mais eficaz em redor do valor de pH 7 ± 1 . Uma vez que a concentração total de fosfato na saliva diminui com o aumento do fluxo salivar, a contribuição deste sistema para a capacidade tampão global diminui fortemente. Ao contrário do sistema fosfato, a contribuição do sistema bicarbonato aumenta na passagem da saliva não estimulada para a estimulada. Este sistema é mais eficaz em redor do pH 6 (Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

Outro sistema tampão de relevo é o proteico. A maioria das proteínas salivares apresenta o seu ponto isoelétrico entre pH 5-9, apresentando boa capacidade tampão a pH alcalino e especialmente ácido. As histatinas, pelo seu elevado conteúdo em histidina, e a sialina, pela sua conversão em amoníaco e putrescina, são exemplos de proteínas salivares que contribuem para a regulação do pH (Buzalaf, Hannas & Kato, 2011; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

Finalmente, o metabolismo das bactérias sobre as proteínas, os péptidos e os aminoácidos origina substâncias alcalinas como as aminas que regularizam o pH salivar (Sala & García, 2013). Algumas bactérias possuem atividade enzimática ureásica, convertendo a ureia em amoníaco e carbonato de amónia (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

5.6- Quantidade de saliva

A hiposialia é um termo baseado em medidas objetivas da produção de saliva, descrevendo uma condição em que o fluxo salivar é menor que o normal. A produção de uma quantidade de saliva não estimulada $\leq 0,1$ ml/min ou de uma saliva estimulada $\leq 0,5-0,7$ ml/min (para mulheres e homens, respetivamente) indica a presença desta condição. A hiposialia reduz a clearance de açúcares e ácidos, aumentando o risco de lesões causadas pela desmineralização das estruturas dentárias, como as lesões de cárie ou de erosão (Wang & Lussi, 2010; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Além disso, um baixo fluxo salivar, especialmente da saliva não estimulada, está relacionado com o aumento da microflora acidogénica e acidúrica, como as bactérias *Lactobacillus* e *Streptococcus mutans* (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Não obstante, estudos demonstraram que alimentos ou bebidas acídicas aumentam o fluxo salivar (Wang & Lussi, 2010).

B) Erosão Dentária

1 – Definição

A erosão dentária consiste “na perda progressiva e irreversível de tecido dentário duro, sendo causada por um processo químico que não envolve atividade bacteriana” (Taji & Seow, 2010; Wang & Lussi, 2012). É caracterizada por uma desmineralização inicial da superfície do esmalte, com uma profundidade variável entre 0,2 e 3 μm (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011). Este processo é seguido pela dissolução

continua por camadas dos cristais de esmalte. Em estados avançados, pode ocorrer exposição dentinária, hipersensibilidade, perda da anatomia dentária e diminuição da dimensão vertical (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011). Esta progressão das lesões erosivas é ilustrada na imagem seguinte (Fig. 1).

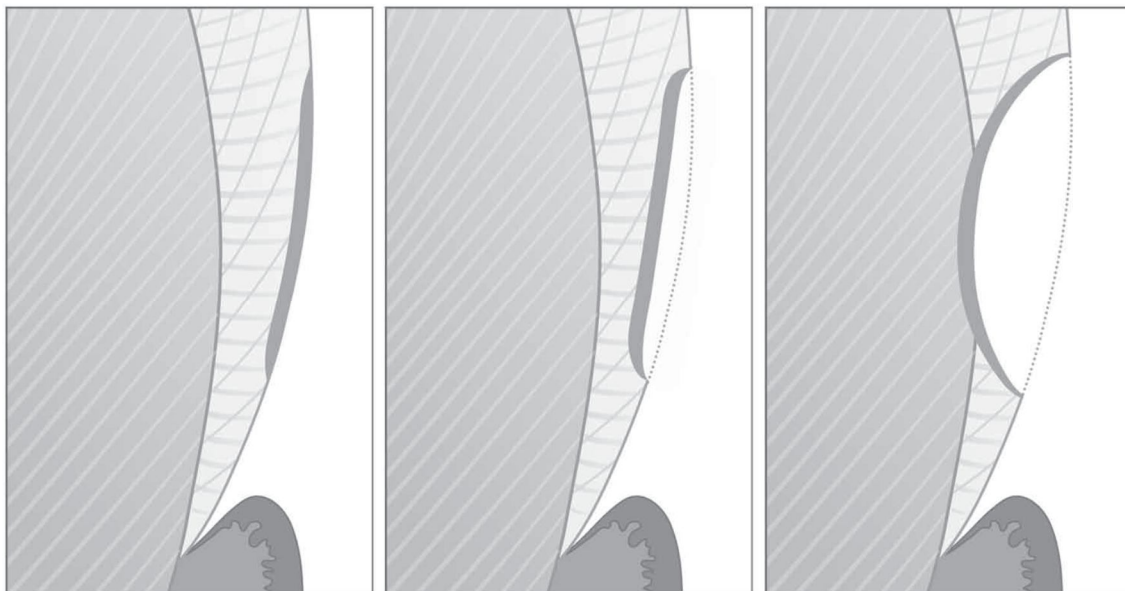


Figura 1 – Diferentes estágios no processo erosivo: amolecimento inicial do esmalte (sem perda de substância) (esquerda), perda de substância (desgaste erosivo) e amolecimento da superfície subjacente (centro) e exposição dentinária (direita). Imagem retirada de Schlueter, Jaeggi & Lussi (2012), com a permissão do Prof. Dr. Adrian Lussi e do *Journal of Dental Research*.

2 – Aspectos Químicos

Ao contrário do processo de desmineralização que ocorre sob a placa bacteriana, que apresenta um ambiente relativamente constante, vários fatores influenciam o processo erosivo (Barbour, Lussi & Shellis, 2011; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Lussi & Carvalho, 2014). Para que a erosão dentária ocorra, os ácidos presentes na solução acídica têm de se difundir através da placa bacteriana (se esta estiver presente), da película adquirida e da camada orgânica que envolve os cristais de esmalte individuais. Só depois desta difusão inicial é que os ácidos podem interagir com os cristais para dar início à desmineralização (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

O pH crítico constitui o pH no qual a solução que rodeia o dente está apenas saturada em relação às estruturas dentárias (Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Acima deste pH, a solução está supersaturada em relação ao esmalte e a precipitação pode ocorrer. Por

outro lado, abaixo do pH crítico, a solução encontra-se subsaturada em relação às estruturas dentárias e a desmineralização pode acontecer (Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Carvalho, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). É também sabido que os minerais dentários se dissolvem exponencialmente a valores de pH abaixo de 3,5 (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012).

O pH crítico depende da solubilidade do esmalte e da atividade dos seus constituintes minerais (Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Lussi & Carvalho, 2014). Os íons fósforo e cálcio assim como fluoreto, em menor extensão, são os elementos responsáveis pelo grau de saturação de uma solução (Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014), sendo o principal motivo para a dissolução ou precipitação do esmalte (Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Lussi & Carvalho, 2014).

No processo cariioso, o fluido da placa bacteriana tem uma concentração relativamente constante de cálcio e fosfato, pelo que é possível reconhecer o pH crítico como 5,5 (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). No entanto, por definição, a erosão dentária consiste na dissolução mineral na ausência de placa, ou seja, a solução adjacente ao dente pode ter concentrações mais elevadas de cálcio e fosfato comparadas com o fluido da placa bacteriana (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). Consequentemente, mesmo em valores de pH tão baixos como o pH crítico da cárie, a estrutura dentária pode não sofrer dissolução, o que significa que não existe pH crítico fixo para o processo erosivo (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). O valor de pH crítico é calculado a partir do grau de saturação em cálcio e fosfato da solução acídica. Isto significa que o pH crítico para a erosão do esmalte varia consoante as soluções erosivas a que é exposto (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Carvalho, 2014).

3 – Aspetos Histológicos

A histologia da erosão dentária difere significativamente de uma lesão de cárie (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). No início do processo cariioso, ocorre uma desmineralização parcial na subsuperfície do esmalte, permanecendo uma fina camada de esmalte intacto à superfície (Wang & Lussi, 2010; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). À medida que a

lesão interna aumenta, o suporte da camada superficial torna-se insuficiente, acabando por colapsar (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

Quando os ácidos atuam sobre a superfície do esmalte, ocorre uma dissolução mineral centrípeta da superfície por camadas, aumentando a rugosidade e diminuindo a microdureza (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Ganss, Lussi & Schlueter, 2014). A camada parcialmente desmineralizada de esmalte varia entre 0,2 e 0,3 μm (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). A dissolução do esmalte prismático ocorre pela degradação dos núcleos dos prismas ou das áreas interprismáticas, revelando uma estrutura em colmeia. Já a ação ácida no esmalte aprismático origina uma desmineralização irregular, sem um padrão estrutural claro (Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011). Ao contrário de uma lesão de cárie, é necessária a desmineralização completa da camada superficial de esmalte para que se inicie a desmineralização em profundidade (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012).

4 - Classificação Segundo os Fatores Etiológicos

A erosão dentária é uma condição multifatorial que apresenta uma etiologia complexa. (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). De acordo com os agentes causais, esta pode ser classificada em idiopática, extrínseca ou intrínseca (Wang & Lussi, 2010; Bhushan, Joshi, Sidhu & Singh, 2011; Sala & García, 2013). A erosão idiopática resulta do contacto com ácidos de origem desconhecida, em que não é possível explicar a sua etiologia por meio de testes ou da história clínica do paciente (Bhushan, Joshi, Sidhu & Singh, 2011). A erosão intrínseca ocorre por contacto com ácidos endógenos ao indivíduo, causados por alterações gastro-intestinais, neurológicas ou endócrinas (Wang & Lussi, 2010; Sala & García, 2013). Também se incluem neste grupo os distúrbios alimentares, a gravidez, o alcoolismo e os efeitos colaterais de alguns fármacos (por exemplo, os agentes quimioterápicos, os estrogénios e os bloqueadores beta) (Sala & García, 2013). Por outro lado, a erosão extrínseca ocorre por contacto com ácidos exógenos ao indivíduo (Wang & Lussi, 2010; Bhushan, Joshi, Sidhu & Singh, 2011; Sala & García, 2013). Neste grupo incluem-se os fatores ocupacionais (nadadores profissionais e enólogos), fatores relacionados com a dieta e estilo de vida (consumo excessivo de alimentos ou bebidas acídicas), bem como a

administração de fármacos (Wang & Lussi, 2010; Bhushan, Joshi, Sidhu & Singh, 2011; Sala & García, 2013).

4.1 – Erosão Causada por Medicamentos

O potencial erosivo dos medicamentos pode dever-se às suas características físico-químicas (descritas no próximo capítulo) ou aos seus efeitos secundários (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). Encontram-se descritos na literatura os efeitos erosivos de várias classes de fármacos, nomeadamente ansiolíticos, anti-histamínicos, antieméticos, anti-parkinsonianos e antiasmáticos, assim como os suplementos de vitamina C, os suplementos de ácido clorídrico e o ácido acetilsalicílico (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014).

A relação entre os medicamentos antiasmáticos e a erosão dentária tem gerado alguma controvérsia (Taji & Seow, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). Segundo alguns autores, os indivíduos asmáticos têm um risco aumentado de desenvolver erosão, mas outros estudos não encontraram uma associação clara entre as medicações antiasmáticas e a erosão dentária (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). Por um lado, o uso prolongado de beta-agonistas (como o salbutamol ou a terbutalina) pode originar xerostomia que, ao modificar os efeitos protetores da saliva, pode contribuir para a erosão dentária (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). É também sabido que os beta-agonistas são uma das causas para a maior prevalência de refluxo gastro-esofágico em pacientes asmáticos, uma condição fortemente associada à erosão dentária (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). Por outro lado, a maioria das medicações antiasmáticas são acídicas e, consequentemente, capazes de alterar o pH do meio oral (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014).

Tal como os medicamentos antiasmáticos, a administração de outros fármacos (ansiolíticos, anti-histamínicos, antieméticos e anti-parkinsonianos) aumenta o risco de erosão ao reduzir o fluxo salivar ou ao alterar a capacidade tampão da saliva (Hellwig & Lussi, 2014). Por outro lado, muitas destas medicações são acídicas, tendo o potencial de causar lesões erosivas em contacto prolongado com as superfícies dentárias (Hellwig & Lussi, 2014).

Por outro lado, a popularidade dos suplementos de vitamina C (ácido ascórbico) tem aumentado nos últimos anos (Taji & Seow, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). É reconhecido o elevado nível de acidez destes fármacos, independentemente da sua forma de administração (Hellwig & Lussi, 2014). Um estudo realizado reportou que a administração destes suplementos sob a forma de pastilhas mastigáveis pode provocar uma descida do pH oral para valores inferiores a 2 (Hellwig & Lussi, 2014). Outros autores concluíram que as crianças que tomam suplementos de vitamina C têm até 4,7 vezes maior risco erosivo (Taji & Seow, 2010; Thomas, Parolia, Kundabala & Vikram, 2010; Hellwig & Lussi, 2014).

Tal como os suplementos de vitamina C, os suplementos de ácido clorídrico usados no tratamento de alterações gástricas foram citados como causa de erosão dentária (Hellwig & Lussi, 2014). A sua elevada acidez tem o potencial para originar lesões erosivas severas (Hellwig & Lussi, 2014).

Relativamente ao ácido acetilsalicílico, a sua administração frequente tem sido associada à erosão dentária (Taji & Seow, 2010; Hellwig & Lussi, 2014). Um estudo comparou crianças com artrite reumatoide juvenil que tomavam este fármaco sob a forma de pastilhas mastigáveis ou sob a forma de comprimidos, concluindo que este quando engolido sem contactar com as superfícies dentárias tem menor potencial erosivo (Taji & Seow, 2010; Hellwig & Lussi, 2014).

5 – Potencial Erosivo

O potencial erosivo de uma substância é francamente influenciado pelas suas propriedades físicas e químicas (Wang & Lussi, 2010; Barbour, Luss & Shellis, 2011).

5.1 – Valor de pH

O valor de pH é o fator dominante na predição do potencial erosivo em desafios erosivos de curta duração (Wang & Lussi, 2010; Barbour, Lussi & Shellis, 2011; Lussi, Mergert, Shellis & Wang, 2012). De modo geral, o valor de pH é uma medida conveniente para designar a concentração dos iões H^+ e OH^- presentes numa solução (Nelson & Cox, 2012). A determinação exata do pH de uma solução realiza-se através de um eléctrodo de pH, que é seletivamente sensível à concentração de iões H^+ mas insensível à concentração de outros catiões em solução (Nelson & Cox, 2012).

A erosão química das estruturas dentárias ocorre pela ação dos iões H^+ que derivam da dissociação do ácido na solução. Estes iões combinam-se com os iões carbonato e/ou fosfato e provocam a libertação de todos os iões presentes nessa região. Com isto, destabilizam a superfície e desmineralizam os cristais de esmalte (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). A dissolução do esmalte aumenta linearmente na faixa de pH entre 6.3 e 2.9 mas, à medida que o pH decresce, a taxa de perda de tecido aumenta abruptamente. Assim, existe uma relação logarítmica entre a erosão dentária e o pH (Barbour, Lussi & Shellis, 2011).

Vários estudos encontraram uma associação positiva entre soluções acídicas e a prevalência da erosão, pelo que um pH menor traduz-se no aumento da desmineralização, independentemente da forma como a erosão é medida (Lussi, Mergert, Shellis & Wang, 2012; West & Joiner, 2014).

De facto, quando um fármaco ácido é usado frequentemente e/ou durante um longo período de tempo, tem o potencial para produzir lesões de erosão (Hellwig & Lussi, 2014). A formulação do pH ácido permite otimizar a eficácia do fármaco, já que a solubilidade de algumas substâncias é dependente do pH. Por outro lado, as preparações farmacêuticas acídicas também são mais palatáveis, o que melhora a aceitação por parte do paciente, principalmente em crianças (Pierro et al., 2013).

5.2 – Acidez titulável

A titulação ácida é usada para determinar a quantidade de ácido total presente numa solução (Cavalcanti et al., 2012). Neste processo, uma base forte (normalmente, hidróxido de sódio) de concentração conhecida é gradualmente adicionada à solução ácida, até que o ácido seja neutralizado. Este ponto é determinado através de um eléctrodo de pH. Sabendo o volume e concentração da base adicionada, torna-se possível calcular a concentração de ácido presente na solução original (Nelson & Cox, 2012). Os resultados são normalmente reportados em mililitros mas devem ser convertidos para milimol por litro (mmol/L), já que a titulação ácida é uma forma de concentração (Barbour, Lussi & Shellis, 2011).

Um estudo comparou a importância relativa do pH e da acidez titulável em intervalos de tempo distintos (3min e 24h de exposição ácida). Os autores concluíram que, ao

contrário do pH, a acidez titulável é o melhor preditor do potencial erosivo em desafios erosivos longos (Lussi, Mergert, Shellis & Wang, 2012).

5.3 – Capacidade tampão

A capacidade tampão (β) de uma solução é “a tendência que a mesma tem a resistir a mudanças no seu pH quando pequenas quantidades de ácido (H^+) ou base (OH^-) são adicionadas” (Nelson & Cox, 2012). Esta característica química é dependente do ácido não-dissociado em solução que, por não ter carga, difunde-se facilmente através dos tecidos mineralizados (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Mergert, Shellis & Wang, 2012).

Quanto menor a alteração de pH, maior é a capacidade tampão da solução (Nelson & Cox, 2012). Uma solução com elevada capacidade tampão é capaz de manter uma concentração elevada de iões H^+ (menor pH) na solução imediatamente adjacente ao esmalte (camada de Nernst) comparativamente a uma solução com baixa capacidade tampão com o mesmo pH basal (Wang & Lussi, 2010; Barbour, Lussi & Shellis, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). Por este motivo, a saliva demorará mais tempo a neutralizar o ácido presente na solução, pelo que haverá maior dissolução mineral até atingir um pH estável (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi, Mergert, Shellis & Wang, 2012). A capacidade tampão é considerada a força motriz para a continuação da desmineralização erosiva (Wang & Lussi, 2010, Ganss, Lussi & Schlueter, 2012).

5.4 – Tipo de Ácido e Constante de Dissociação Ácida

Os ácidos presentes na cavidade oral podem ser classificados como fortes ou fracos. De modo geral, quando o pH de uma solução iguala o valor de pKa (logaritmo negativo da constante de dissociação ácida Ka) de um ácido fraco, este ácido existe 50% na forma de anião e 50% na forma não-dissociada (Nelson & Cox, 2012; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

Raras são as situações em que um ácido inorgânico forte, como o ácido hidrocloreídrico, está presente na boca. Este tipo de ácido dissocia-se totalmente em água, originando iões hidrogénio, que rapidamente dissolvem a estrutura dentária, e iões cloreto que não exercem qualquer papel desmineralizante (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

O ácido cítrico é um ácido fraco, mas tem uma interação mais complexa, dissociando-se em iões hidrogénio, aniões ácidos (como citrato) e moléculas ácidas não-dissociadas (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Estes iões hidrogénio exercem o mesmo ataque direto que os provenientes do ácido hidrocloreídrico (Wang & Lussi, 2010; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Além disto, o anião citrato pode complexar-se com o cálcio presente na superfície mineral e removê-lo (Wang & Lussi, 2010; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Esta dupla ação do ácido cítrico é altamente danosa para a estrutura dentária (Wang & Lussi, 2010; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Assim, o anião citrato cede iões H^+ que atacam a superfície (a baixo pH) e remove o cálcio dos cristais minerais (a pH alto) (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Tal como o ácido cítrico, o ácido láctico também se liga ao cálcio e, mesmo a valores de pH entre 6 e 7, é capaz de erodir o esmalte (Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

5.5 – Concentração de Cálcio, Fósforo e Flúor

As concentrações de cálcio, fósforo e flúor são também importantes agentes no processo erosivo, uma vez que em combinação com o pH, determinam o grau de saturação da solução em relação ao esmalte (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). Quando uma solução com baixo grau de saturação contacta com o esmalte, ocorre uma desmineralização inicial à superfície (Wang & Lussi, 2010). Consequentemente, dá-se um aumento local do pH e ocorre um acréscimo no conteúdo mineral na camada de Nernst, que se torna saturada em relação ao esmalte (Wang & Lussi, 2010). Assim, a progressão da desmineralização cessa (Wang & Lussi, 2010).

A presença de cálcio numa solução erosiva pode modificar a taxa de dissolução do esmalte ao elevar o grau de saturação na camada de Nernst (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). A um nível constante de saturação, quanto maior a proporção cálcio/fósforo, menor será a erosão (Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). De facto, vários estudos concluíram que a modificação de bebidas pela adição de concentrações de cálcio relativamente altas (5-10 mmol) reduz o seu potencial erosivo (Wang & Lussi, 2010; Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014). Nessas bebidas, o carbonato de cálcio aumenta a concentração de cálcio, promovendo também a subida do pH (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

Por outro lado, não foi encontrada nenhuma correlação entre as concentrações de fosfato da solução em contacto com o esmalte e o seu potencial erosivo. Em pH ácido, a proporção da concentração total de fosfato na forma de iões PO_4^{3-} é extremamente baixa, sendo esta a responsável pelo grau de saturação (Barbour & Lussi, 2014; Shellis, Featherstone & Lussi, 2014).

A literatura é contraditória em relação ao potencial erosivo de soluções ácidas contendo flúor. Alguns estudos demonstraram uma associação negativa significativa entre a capacidade erosiva e a concentração de flúor. Outros estudos reportaram que a concentração de flúor não tem efeito na profundidade das lesões de erosão (Lussi, Megert, Shellis & Wang, 2012; Huysmans, Young & Ganss, 2014). Outros autores concluíram que nas bebidas com pH superior a 3, a concentração de flúor diminuiu o desenvolvimento de lesões erosivas *in vitro* em 28%; em bebidas com pH inferior a 3, a erosão não foi afetada (Huysmans, Young & Ganss, 2014).

5.6 - Duração da exposição

A ingestão frequente ou prolongada de soluções ácidas predispõe ao desenvolvimento da erosão dentária (Wang & Lussi, 2010; Wang & Lussi, 2012; Barbour & Lussi, 2014). Vários estudos demonstraram a existência de uma relação direta entre a duração da exposição e a dissolução do esmalte, tendo sido encontrada uma correlação positiva entre quantidade de perda mineral e a profundidade das lesões erosivas com o aumento da exposição a agentes ácidos (Wang & Lussi, 2012; Barbour & Lussi, 2014). Por este motivo, é aconselhado ingerir soluções ácidas rapidamente ou com recurso a uma palhinha (Barbour & Lussi, 2014).

5.7 – Viscosidade

O potencial erosivo não está apenas relacionado com fatores químicos, mas também com aspetos físicos da solução, como a viscosidade (Wang & Lussi, 2010; Aykut-Yetkiner, Wiegand, Bollhalder, Becker & Attin, 2013). A viscosidade é uma propriedade que está diretamente relacionada com a temperatura, pelo que a mesma solução sujeita a uma temperatura mais elevada torna-se mais fluída (Aykut-Yetkiner, Wiegand, Bollhalder, Becker & Attin, 2013).

Um estudo analisou o efeito erosivo da adição de polímeros a soluções de ácido cítrico, concluindo que estes suplementos aumentam a viscosidade da solução e formam uma

barreira protetora à superfície do esmalte, reduzindo a erosão (Beyer, Reichert, Heurich, Jandt & Sigusch, 2010). Outro estudo, cujo objetivo era avaliar o efeito erosivo de medicamentos acídicos no esmalte, concluiu que a viscosidade dos medicamentos promove maior adesão às estruturas dentárias, formando uma barreira protetora contra outros ácidos presentes (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2011). Por outro lado, uma investigação realizada por Aykut-Yetkiner, Wiegand, Bollhalder, Becker & Attin (2013) analisou os efeitos erosivos das alterações na viscosidade de diferentes soluções acídicas. Os autores concluíram que a perda de esmalte é dependente da viscosidade da solução: as soluções mais viscosas causaram menor erosão no esmalte, independentemente do tipo de ácido e do nível de pH.

5.8 – Velocidade do Fluxo e Agitação Mecânica

Além da viscosidade, existem outros fatores físicos de enorme influência no processo erosivo. A forma como uma solução acídica é introduzida na boca, bem como a movimentação da mesma pela língua ou mucosa jugal, acelera a perda de esmalte (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). De facto, um estudo realizado encontrou uma forte relação entre a erosão e a velocidade do fluxo, concluindo que a agitação da solução pode aumentar a perda mineral até 5 vezes mais quando comparado com uma solução constante (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). Segundo os autores, a explicação para esta relação reside na difusão de iões para fora do esmalte e na constante substituição da camada líquida imediatamente adjacente ao esmalte (camada de Nernst) (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Carvalho, 2014). A maior velocidade de uma solução acídica potencia a difusão iónica e impede a camada de Nernst de atingir um estado de saturação, intensificando consequentemente a dissolução do esmalte (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Carvalho, 2014).

5.9 – Temperatura

A temperatura é também outro importante fator físico com influência no potencial erosivo. Um estudo avaliou a influência da temperatura na erosão, concluindo que a profundidade da desmineralização aumentou de forma não-linear com o aumento da temperatura das soluções (Lussi & Carvalho, 2014). Por outro lado, relativamente ao efeito da temperatura na quantidade de perda mineral e na profundidade das lesões erosivas, outros autores concluíram que as soluções acídicas a temperatura mais elevada

têm maior potencial erosivo (Barbour & Lussi, 2014). É de notar que, se todos os restantes fatores se mantiverem constantes, uma solução acídica a uma temperatura mais elevada potenciará a desmineralização do esmalte. Por este motivo, bebidas servidas quentes são mais erosivas que as mesmas bebidas servidas à temperatura ambiente ou refrigeradas (Barbour & Lussi, 2014).

6 – Prevalência

A erosão dentária é uma condição comum nos países desenvolvidos, sendo encontradas lesões independentemente da idade da população examinada (Jaeggi & Lussi, 2014). Há alguma evidência que a prevalência da erosão dentária está a aumentar consistentemente, especialmente em grupos etários mais novos (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012; Jaeggi & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014). A principal explicação para este facto reside na mudança dos hábitos alimentares e de estilo de vida (Wang & Lussi, 2010; Jaeggi & Lussi, 2014).

No entanto, é difícil comparar os resultados de estudos epidemiológicos pela diversidade de critérios usados (calibração dos examinadores, sistemas de classificação e faces dentárias observadas) e pela diferença entre os grupos examinados (idade, género, tamanho da amostra e localização geográfica) (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Jaeggi & Lussi, 2014).

De acordo com o inquérito “Children’s Dental Health in the United Kingdom” realizado em 1993, a prevalência de erosão com exposição dentinária nas faces palatinas dos dentes decíduos era de 8% e 24% em crianças de 2 e 5 anos, respetivamente (Jaeggi & Lussi, 2014).

Mais tarde, outros estudos apontaram que a prevalência da erosão dentária na dentição decídua variava entre 65% em crianças inglesas de 4 a 6 anos e 71% em crianças alemãs de 8 a 11 anos (Jaeggi & Lussi, 2014). Outros estudos reportaram lesões de erosão em 78% dos dentes decíduos de crianças australianas dos 5 aos 15 anos (Jaeggi & Lussi, 2014). De modo geral, a erosão afeta 1 a 79% das crianças em idade pré-escolar (2 a 5 anos) e 14% das crianças em idade escolar (5 a 9 anos) já apresentam lesões na dentição permanente (Jaeggi & Lussi, 2014).

Além disso, existe uma tendência para o desenvolvimento de mais lesões erosivas com o aumento da idade. Em geral, os homens são mais afetados que as mulheres (Jaeggi & Lussi, 2014; West & Joiner, 2014). Relativamente à dentição permanente, a prevalência de erosão nas faces palatinas em 1993 era de 8% e 31% em crianças inglesas de 7 e 14 anos, respetivamente (Jaeggi & Lussi, 2014). Outros estudos realizados em adolescentes apontaram para uma prevalência de 10% a 90%, mas apenas foram encontradas lesões severas de erosão em 2% dos casos (Jaeggi & Lussi, 2014). Da revisão de outros trabalhos, Jaeggi & Lussi (2014) concluem que 7 a 100% dos adolescentes (9 aos 18 anos) e que 4% a 100% dos adultos (18 aos 88 anos) apresentam sinais de erosão dentária.

7 – Incidência

Um estudo longitudinal em crianças alemãs realizado entre 1977-87 e 1990-99 demonstrou que o número de lesões erosivas praticamente duplicou neste período de tempo. De facto, as lesões com atingimento dentinário em pelo menos um dente decíduo aumentaram de 18% para 32%, enquanto as lesões no primeiro molar inferior passaram de 4% para 9% (Jaeggi & Lussi, 2014). Foram reportadas conclusões similares noutro estudo realizado em adolescentes ingleses (Jaeggi & Lussi, 2014).

Num estudo realizado no Reino Unido em 2003, 27% dos adolescentes com 12 anos desenvolveram novas lesões aos 14 anos de idade (Wang & Lussi, 2010; Jaeggi & Lussi, 2014). Neste estudo, as lesões na dentina atingiam 5% aos 12 anos, aumentando para 13% aos 14 anos de idade (Wang & Lussi, 2010; Jaeggi & Lussi, 2014). Já as lesões confinadas ao esmalte correspondiam a 56% aos 12 anos e 64% aos 14 anos (Jaeggi & Lussi, 2014).

Um estudo longitudinal mais recente realizado nos Países Baixos observou crianças desde os 12 anos de idade até aos 15 anos. Os investigadores concluíram que a incidência de novas lesões erosivas diminuiu durante o período de estudo de 3 anos, enquanto a prevalência de lesões profundas com atingimento de dentina aumentou de 2% para 24% em crianças que já apresentavam lesões erosivas aos 12 anos (El Aidi, Bronkhorst, Huymans & Truin, 2010).

Jaeggi & Lussi (2014) reportaram que a incidência no grupo dos 18 aos 88 anos mostra uma incidência de 5% em adultos jovens e de 18% em idosos.

8 – Manifestações Clínicas

A aparência clínica das lesões de erosão é uma das características de maior ênfase no diagnóstico da erosão (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012).

Inicialmente, as lesões não apresentam sinais de descoloração nem de amaciamento da superfície dentária, pelo que se tornam difíceis de detetar no exame visual e/ou táctil (Wang & Lussi, 2010; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012). Estas lesões iniciais localizam-se coronalmente à junção amelocimentária, apresentando um bordo de esmalte intacto ao longo da margem gengival (Wang & Lussi, 2010; Ganss & Lussi, 2014). Esta preservação cervical do esmalte pode dever-se à presença de placa bacteriana remanescente, que atua como uma barreira de difusão contra os ácidos, ou devido ao efeito neutralizador do fluido crevicular, que possui um pH entre 7,5 e 8 (Wang & Lussi, 2010; Ganss & Lussi, 2014). A continuação do ataque ácido leva à formação de pseudo-chanfros à margem da superfície erodida (Ganss & Lussi, 2014). Nestes estados iniciais, os sintomas relatados pelo paciente são nulos ou muito limitados (Wang & Lussi 2010; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012).

Em lesões mais avançadas, a cor do esmalte mantém-se mas ocorre diminuição no brilho e a superfície tona-se mate, como resultado do aumento da rugosidade (Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Ganss & Lussi, 2014). As superfícies dentárias convexas tornam-se planas ou concavas, originando lesões cuja largura claramente excede a profundidade. Com a progressão das lesões, pode observar-se a perda de detalhes da microanatomia, o atenuamento das fossas e sulcos oclusais, exposição dentinária, proeminência de restaurações pelo desgaste da estrutura dentária adjacente e presença de concavidades bem definidas nas faces oclusais e incisais, especialmente nas pontas das cúspides dos dentes posteriores (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2010; Ganss & Lussi, 2014). É frequente a visualização da polpa através do tecido dentário remanescente, uma condição mais comum nos incisivos superiores decíduos (Wang & Lussi, 2010; Johansson, Omar, Carlsson & Johansson, 2012).

Os tecidos erodidos são mais suscetíveis a impactos físicos, pelo que é frequente encontrar outras formas de desgaste associadas, como atrição ou abrasão (Wang & Lussi, 2010; Lussi, Schlueter, Rakhmatullina & Ganss, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012).

9 - Distribuição

A erosão dentária pode ocorrer em qualquer superfície dentária. No entanto, as localizações mais comuns situam-se nas faces oclusais dos primeiros molares inferiores, seguidas pelas faces vestibulares dos dentes anterosuperiores (El Aidi, Bronkhorst, Huysmans & Truin, 2010; Jaeggi & Lussi, 2014). As lesões proximais são difíceis de diagnosticar mas são provavelmente raras, sendo mais comuns a formação de degraus cervicais ou a inversão das cúspides em molares (Jaeggi & Lussi, 2014).

10 – Diagnóstico e Índices de Classificação

Ao longo dos anos, têm sido propostos diferentes sistemas de classificação para avaliar a erosão dentária. Devido à complexidade de alguns destes sistemas, que empregavam critérios extensamente discriminativos, a comparação entre estudos encontrava-se dificultada (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou, 2011). Em 2008, Bartlett, Ganss e Lussi propuseram um novo índice, denominado Basic Erosive Wear Examination (B.E.W.E.), para classificar e avaliar o grau de progressão da erosão dentária (Dixon et al., 2012; Lussi & Hellwig, 2014). Este veio colmatar a necessidade de um sistema simples, reproduzível e conveniente (Wang & Lussi, 2010; Dixon et al., 2012; Lussi & Hellwig, 2014).

O B.E.W.E. é um sistema de classificação parcial que avalia a superfície dentária mais severamente afetada num sextante, classificando-a como 1 de 4 níveis (Tabela 1) (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Hellwig, 2014). O exame é repetido em todos os dentes de um sextante, mas apenas a superfície com maior pontuação é anotada (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Hellwig, 2014). Após a avaliação de todos os sextantes, calcula-se a soma das seis pontuações (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Hellwig, 2014). As pontuações acumuladas permitem determinar o nível de risco do paciente e guiam os procedimentos terapêuticos (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Lussi & Hellwig, 2014).

Pontuação	Aparência
0	Sem desgaste erosivo
1	Perda inicial da textura da superfície
2	Defeito distinto, perda de tecido duro < 50% da área superficial
3	Perda de tecido duro ≥ 50% da área superficial

Tabela 1 – Critérios de avaliação do desgaste erosivo (Basic Erosive Wear Examination)

Segundo um estudo realizado em 164 adultos no Reino Unido, o índice B.E.W.E. detetou lesões erosivas moderadas com 48,6% de sensibilidade e 96,1% de especificidade e lesões severas com 90,9% de sensibilidade e 91,5% de especificidade (Dixon et al., 2012). Noutro estudo comparativo entre vários índices, concluiu-se que o B.E.W.E. é um sistema de classificação efetivo para avaliar o desgaste erosivo apresentando suficiente sensibilidade e especificidade (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou, 2011).

11 – Prevenção e Remineralização das Lesões Erosivas

Têm sido propostas várias medidas profiláticas para determinar e eliminar fatores de risco, bem como para melhorar a resistência dos tecidos dentários duros à ação de agentes desmineralizantes (Wang & Lussi, 2010; Buzalaf, Magalhães & Wiegand, 2014; Huysmans, Young & Ganss, 2014).

O efeito protetor da aplicação tópica de flúor é amplamente aceite na prevenção da cárie dentária. No entanto, é um equívoco presumir que este é igualmente eficaz na remineralização de lesões erosivas (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Huysmans, Young & Ganss, 2014).

Em teoria, a remineralização de lesões dentárias requer a presença de cristais de apatite parcialmente desmineralizados que possam crescer até ao seu tamanho original, como resultado da exposição a soluções supersaturadas em relação à apatite. A formação de cristais inteiramente novos não é comum. Estas duas condições limitam o que pode ser esperado da remineralização de lesões erosivas (Huysmans, Young & Ganss, 2014; Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015).

potencial da aplicação tópica de flúor na prevenção da desmineralização erosiva está principalmente relacionado com a formação de uma camada de fluoreto de cálcio (Wang & Lussi, 2010; Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Huysmans, Young & Ganss, 2014). Assume-se que esta camada atue como uma barreira que evita o contacto dos ácidos com o esmalte, ou que atue como um reservatório mineral que aumenta os níveis de saturação na solução adjacente à superfície (Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Huysmans, Young & Ganss, 2014). A formação desta camada está altamente dependente do pH, da concentração de fluoreto e da frequência de aplicação

(Wang & Lussi, 2010; Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). A deposição de fluoreto de cálcio na superfície aumenta com o aumento da concentração e frequência de aplicação e com a diminuição do pH do agente (Wang & Lussi, 2010; Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). Os agentes fluoretados com pH abaixo de 5 induzem uma maior deposição de fluoreto de cálcio que agentes neutros (Wang & Lussi, 2010; Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011).

O uso de vernizes de fluor de alta concentração é uma medida usada na prática clínica e em programas comunitários há mais de 30 anos. Estes permitem a aplicação de flúor em superfícies dentárias de risco, sendo empregues a cada 3 ou 6 meses (Fejerskov, Nyvad & Kidd, 2015). Têm elevada eficácia não só porque criam um reservatório de fluoreto de cálcio, mas também devido à sua retenção mecânica ao endurecer (Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Huysmans, Young & Ganss, 2014).

Estudos demonstraram que a aplicação de verniz de fluoreto de sódio (NaF) é eficaz na redução da erosão no esmalte por 30 minutos da exposição ácida, mas o seu efeito protetor diminui após este período (Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Huysmans, Young & Ganss, 2014). Outros estudos concluíram que os vernizes placebo oferecem alguma proteção contra a erosão, pelo que se acredita que o efeito protetor dos vernizes de flúor esteja mais relacionado com a proteção mecânica do que química (Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011).

Desta forma, apesar de a remineralização de lesões erosivas ser pouco provável, há evidências convincentes de que a aplicação de flúor fortalece o esmalte contra agentes erosivos (Wang & Lussi, 2010; Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Huysmans, Young & Ganss, 2014). O uso de vernizes de fluor de alta concentração ou aplicações frequentes de agentes fluoretados são considerados abordagens efetivas na prevenção da erosão (Wang & Lussi, 2010; Magalhães, Wiegand, Rios, Buzalaf & Lussi, 2011; Huysmans, Young & Ganss, 2014).

C) Pertinência do Estudo

A erosão dentária é uma condição complexa de etiologia multifatorial, cuja prevalência e a incidência tem vindo a aumentar (Wang & Lussi, 2010; Ganss, Lussi & Schlueter, 2012). A erosão pode condicionar o dia-a-dia dos pacientes, uma vez que está associada alterações da aparência e/ou perda de função dos dentes (Schlueter, Jaeggi & Lussi, 2012). A ocorrência de hipersensibilidade dentinária, alterações na oclusão, dificuldades na alimentação e exposição pulpar são também condições ligadas à erosão (Taji & Seow, 2010). Enquanto a erosão inicial ou moderada pode ser tratada com métodos não-invasivos ou minimamente invasivos, os defeitos erosivos severos implicam terapias mais complexas e dispendiosas (Schlueter, Jaeggi & Lussi, 2012).

A administração de medicações acídicas de forma frequente e prolongada tem sido associada a um maior risco de erosão dentária, especialmente sem a presença de flúor no ambiente (Ganss, Lussi & Schlueter, 2012; Xavier et al., 2013). As formas farmacêuticas líquidas (como xaropes, soluções ou suspensões) são a terapia de escolha no tratamento de pacientes pediátricos, mas também são preferidos por parte da população adulta e idosa (Xavier et al., 2013). Assim, é relevante determinar que medicamentos detêm maior potencial erosivo quando consumidos por períodos de tempo prolongados. Este conhecimento torna-se ainda mais útil quando o paciente apresenta uma redução nos fatores protetores intrínsecos (como diminuição na qualidade ou na quantidade da saliva), uma vez que o efeito destas medicações acídicas será potenciado. Nestes casos, é importante reforçar a proteção das estruturas dentárias com recurso a flúor ou, se possível, encontrar medicações alternativas de menor potencial erosivo. Além disto, o conhecimento das propriedades químicas dos fármacos e do seu efeito sobre o esmalte dentário possibilita a introdução de novas formulações de menor potencial erosivo pela indústria farmacêutica.

D) Objetivos

- Caracterizar os fármacos do estudo relativamente às suas concentrações elementares, características físicas e outros aspetos de interesse descritos pelos fabricantes;
- Comparar as propriedades químicas dos fármacos do estudo (pH e acidez titulável);
- Comparar o potencial erosivo dos distintos fármacos, relativamente à análise qualitativa e quantitativa da superfície de esmalte;
- Comparar o potencial remineralizador da aplicação de saliva artificial, ou de saliva artificial e verniz de fluor a alta concentração, relativamente à análise qualitativa e quantitativa da superfície de esmalte.

E) Hipóteses Nulas

- Todos os fármacos demonstram ter o mesmo potencial erosivo sobre o esmalte:
 - o Não existem diferenças microscópicas qualitativas na superfície do esmalte erodido, independentemente do fármaco em estudo;
 - o Não existem diferenças quantitativas na dureza do esmalte, independentemente do fármaco em estudo.
- A aplicação de saliva artificial ou de saliva artificial e verniz de flúor de alta concentração demonstra ter o mesmo potencial remineralizante no esmalte:
 - o Não existem diferenças microscópicas qualitativas na superfície do esmalte erodido após a aplicação de saliva artificial ou saliva artificial e verniz de flúor de alta concentração;
 - o Não existem diferenças quantitativas na dureza do esmalte após a aplicação de saliva artificial ou saliva artificial e verniz de flúor de alta concentração.

II – MATERIAIS E MÉTODOS

A) Desenho do Estudo e Local do Estudo

Foi realizado um estudo experimental *in vitro*, analítico e prospectivo.

O estudo foi executado no Laboratório de Biomateriais e no Laboratório de Morfologia do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz entre Março e Abril de 2015. A análise das amostras no microscópio eletrónico de varrimento foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrónica no Instituto Superior Técnico em Abril de 2015.

B) Seleção da Amostra

Após a aprovação da Comissão de Ética para a Saúde da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz, foram aleatoriamente selecionados 22 molares humanos superiores e inferiores, intactos. Os dentes foram fornecidos pelo banco de dentes da Clínica Dentária Egas Moniz, tendo sido obtidos de sujeitos anónimos. Todos os dentes foram preservados até 6 meses após a sua extração numa solução diluída de cloramina T a 0,5% e água desionizada a 4°C.

Apenas foram selecionados os dentes que respeitassem os seguintes critérios de inclusão: higidez, ausência de lesões de cárie, ausência de fraturas de esmalte, sem tratamento químico ou mecânico prévio, à exceção dos contemplados na higiene dentária dos indivíduos. Consequentemente, foram excluídos deste estudo todos os dentes que apresentavam lesões de cárie, restaurações, fraturas, malformações, perda de integridade ou que tivessem sido submetidos a tratamentos mecânicos (por exemplo, tratamento ortodôntico), químicos (como branqueamento) ou eletromagnéticos (por exemplo, radiação laser). Os critérios de inclusão visuais foram observados, nesta fase inicial, através da lupa estereomicroscópica LeicaTM MZ6 (Leica, Germany).

Após selecionada a amostra, as raízes dos dentes foram cuidadosamente limpas com curetas Gracey 3/4 e 5/6 para a remoção de quaisquer restos de ligamento periodontal, sem invadir o espaço coronário de modo a preservar o esmalte. De seguida, os dentes foram limpos com uma compressa e sujeitos a um banho de ultrassons, para remover potenciais impurezas depositadas na superfície do esmalte.

C) Polimento da Amostra

Após a seleção da amostra e a observação inicial à lupa, procedeu-se ao polimento dos dentes. Devido à convexidade natural das faces coronárias, a face vestibular e a face lingual/palatina de cada dente foi ligeiramente polida com recurso à máquina LaboPol-4[®] (Struers) e a discos de polimento a 40 rpm, sob arrefecimento com água (Fig. 2).



Figura 2 – Máquina LaboPol-4[®] (Struers) e disco de polimento

D) Acrilização e Secção dos Dentes

Todos os dentes foram acrilizados de modo a facilitar a sua posterior secção. Foram usadas seringas de 20 mL Henry Schein[®] como recipiente para a colocação doacrílico. Em primeiro lugar, foi removido o topo das seringas, procedendo-se à nivelção pela marca de 1 mL. Para isolar as coroas dos dentes, foi colocado silicone de adição Normosil Adición Putty Normal (Normon), lote 186989, validade 2016/02, na base do êmbolo, perfazendo cerca de 5 mL. A coroa de cada dente foi introduzida no silicone até à sua completa submersão, tendo-se aguardado a polimerização do material (aproximadamente 5min). Seguidamente, a porção radicular de cada dente foi acrilizada com VertexTM Self Curing, lote XY105L12. Após a presa doacrílico (cerca de 10 min), os blocos deacrílico foram removidos da seringa, bem como o silicone, permanecendo as coroas totalmente intactas.

Após este processo, a coroa de cada um dos dentes foi seccionada na máquina de corte de precisão Accutom-50[®] (Struers) (Fig. 3) em 4 quartos, perfazendo um total de 88 amostras. Depois de fixar a baseacrílica ao aparelho, procedeu-se ao corte da coroa

seguindo o sulco central da face oclusal, separando a face vestibular da face palatina/lingual. Seguidamente foi realizado um corte no sentido vestibulo-lingual/palatino, separando as metades da coroa em 2 (porção mesio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual/palatina e disto-lingual/palatina). A porção coronária foi separada da porção radicular recorrendo a um corte ao nível da junção amelocimentária. Neste estudo, apenas foram utilizadas as porções coronárias, tendo sido descartadas as raízes dos dentes. Os 22 dentes iniciais originaram, assim, uma amostra de 88 espécimes (n=88).

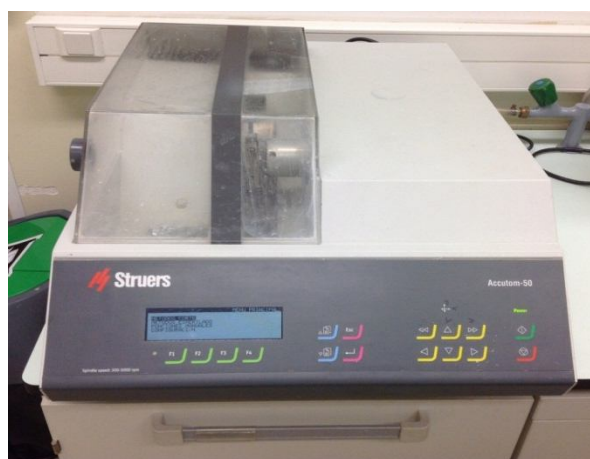


Figura 3 – Corte de um dente na máquina de precisão Accutom-50[®] (Struers)

E) Aleatorização da Amostra

Os elementos da amostra foram aleatoriamente alocados em três grupos de estudo (Fig. 4) e um grupo de controlo através do software Excel (função ALEATÓRIOENTRE).

- Grupo A (n=22) – submetido a sulfato de salbutamol (Ventilan[®])
- Grupo B (n=22) – submetido a loratadina (Claritine[®])
- Grupo C (n=22) – submetido a guaifenesina (Vicks[®])
- Grupo D (n=22) – controlo, submetido a água destilada



Figura 4 – Xaropes dos grupos de estudo: Ventilan[®] (grupo A), Claritine[®] (grupo B) e Vicks[®] (grupo C)

Dentro de cada grupo (n=22), todos os espécimes foram submetidos ao mesmo sistema de aleatorização para determinar que 11 elementos seriam submetidos a saliva artificial (subgrupos A1, B1, C1 e D1) e que 11 elementos seriam submetidos a verniz de flúor de alta concentração (Profluorid®, VOCO, 5% NaF, 22600 ppm F) e saliva artificial (subgrupos A2, B2, C2 e D2).

F) Caracterização dos Fármacos

Os fármacos foram caracterizados relativamente ao seu princípio ativo, concentrações elementares, características físicas e outros aspetos de interesse descritos pelos fabricantes. Confeccionou-se uma tabela comparativa destas características que pode ser encontrada na secção dos resultados.

G) Determinação do pH e da Acidez Titulável

Antes de determinar o pH, foram pesadas 20 gramas de cada fármaco num béquer com recurso a uma balança de precisão Practum® (Sartorius) (d = 0,01g) (Fig. 5).



Figura 5 – Pesagem de 20 g de cada fármaco

Para determinar o pH, recorreu-se a um eléctrodo de pH (Basic20[®] - Crison). Este foi previamente calibrado com 3 soluções tampão distintas de pH conhecido. Seguidamente foi introduzido um íman no fármaco e o béquer foi colocado sobre um agitador magnético Agimatic-N[®] (Selecta). Finalmente, o eléctrodo de pH foi parcialmente submerso no fármaco e determinado o pH pelo método de estabilidade, a 25°C.

Para determinar a acidez titulável (Fig. 6), foi usado o mesmo eléctrodo de pH submerso no fármaco, mas recorrendo ao método de continuidade. Foram adicionados 5 mL de NaOH a 0,1 M a uma bureta previamente fixa num suporte próprio. O fármaco foi titulado em incrementos de 0,02 mL a 25°C até neutralizar o pH da solução. Depois, foi anotada a quantidade de base usada para elevar o pH do meio.



Figura 6 – Determinação da acidez titulável de um fármaco

O processo acima descrito foi repetido para os restantes dois fármacos, tendo sido construída uma tabela comparativa destas características que se encontra disponível na secção dos resultados.

H) Protocolo de Desmineralização e de Remineralização

O protocolo seguinte foi adotado para simular um número comum de tomas dos fármacos (Fig. 7). Dentro de cada grupo, os 22 elementos foram submetidos à imersão em 10 mL do respetivo fármaco ou solução (grupo A - Ventilan[®], grupo B - Claritine[®], grupo C - Vicks[®]; D- água destilada), por 1 minuto, sob agitação mecânica (30 rpm) e a 25°C. Este procedimento foi repetido 3 vezes ao dia (intervalos de 6 horas), durante 5 dias, perfazendo 15 ciclos de imersão (15 minutos de contacto). Para realizar cada nova imersão, a solução correspondente a cada grupo foi renovada. Após cada imersão, todos os elementos foram lavados com água destilada e mantidos em 10 mL de saliva artificial numa estufa a 37°C. Desde a última imersão de cada dia até ao fim do dia correspondente, todos os elementos foram mantidos em saliva artificial.

Nos 2 dias seguintes, 11 elementos de cada grupo (subgrupos A1, B1, C1 e D1) foram submetidos à imersão em 10 mL de saliva artificial até ao início do próximo ciclo, enquanto os outros 11 espécimes (subgrupos A2, B2, C2 e D2) foram submetidos à aplicação de verniz de flúor de alta concentração (Profluorid[®], VOCO) e saliva artificial.

Antes de aplicar o verniz, os espécimes foram limpos com uma compressa embebida em água destilada e foi eliminado o excesso de humidade da sua superfície com ar. O verniz de flúor foi aplicado com um *microbrush* na superfície do esmalte, numa camada fina e uniforme. Seguidamente, os espécimes foram colocados em saliva artificial para assegurar o processo de presa do verniz. O verniz permaneceu na superfície do esmalte durante 24h e, após este tempo, foi delicadamente removido com um cotonete previamente imerso em água desionizada, sem esfregar. Não foram usadas quaisquer substâncias químicas para remoção do verniz para não alterar a superfície do esmalte. Após a remoção do verniz, esses espécimes foram também imersos em saliva artificial até ao início do próximo ciclo.

Todo o processo anteriormente descrito foi repetido por mais uma semana, totalizando 30 ciclos de imersão.

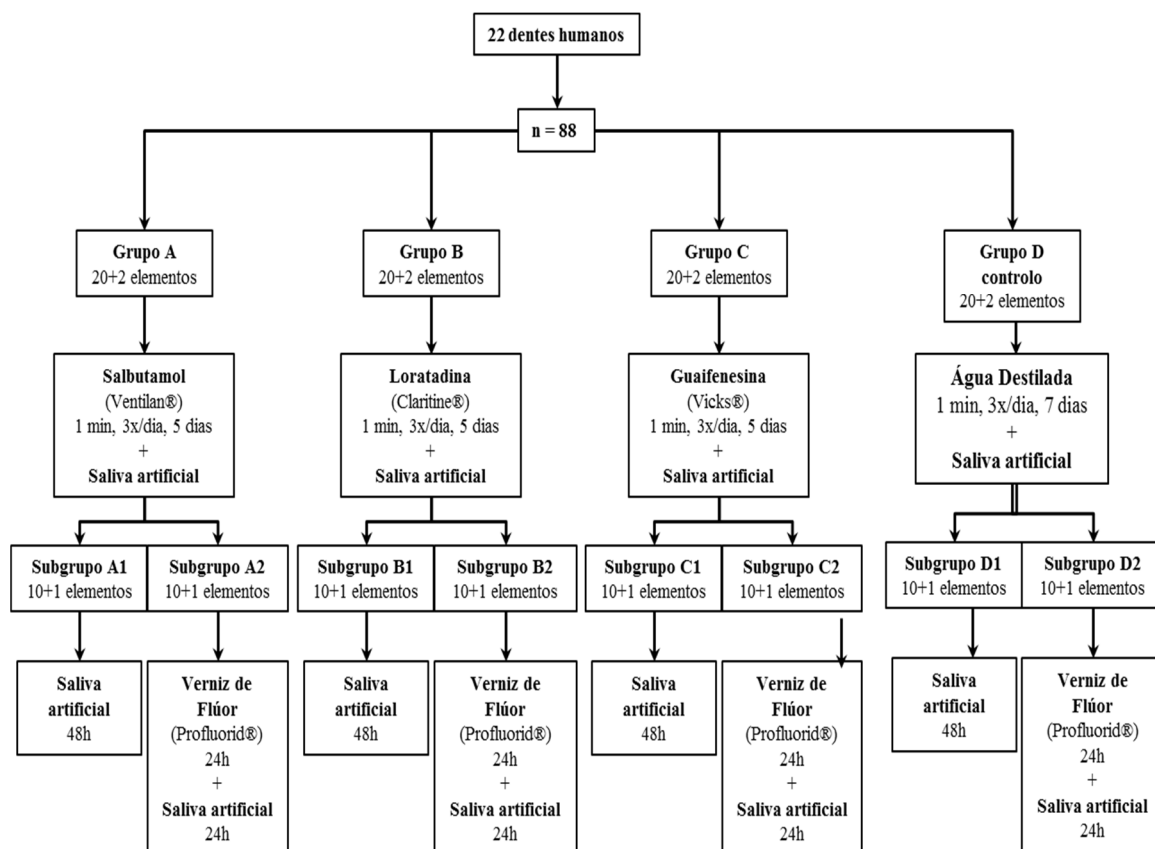


Figura 7 – Protocolo laboratorial de desmineralização e remineralização

I) Análise da Superfície do Esmalte

Para poder comparar o potencial erosivo dos diferentes fármacos e o potencial remineralizador da saliva artificial e/ou do verniz de fluor de alta concentração optou-se por utilizar métodos qualitativos (lupa estereomicroscópica e microscópio eletrónico de varrimento) e quantitativos (teste de dureza de Vickers).

1 - Observação à Lupa Estereromicroscópica

Antes de começar qualquer ciclo de imersão, todos os elementos de cada grupo foram observados à lupa estereomicroscópica LeicaTM MZ6 (Leica, Germany) com ampliação de 20x, tendo sido capturadas as fotografias correspondentes a cada espécime.

No final dos ciclos de imersão, todos os elementos de cada grupo foram novamente observados à lupa estereomicroscópica com a mesma ampliação. No espaço de tempo entre o fim dos ciclos e a análise à lupa (cerca de uma hora), as amostras foram armazenadas em água desionizada. Foram capturadas as fotografias correspondentes e

anotadas as alterações, classificando cada elemento de acordo com o critério patognómico para a avaliação do Índice da Erosão Dentária (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou, 2011) (Tabela 2). Neste estudo apenas foram considerados os dois primeiros níveis de classificação pela não aplicação dos restantes níveis a este estudo.

Pontuação	Critério
0	Não há desgaste erosivo
1	Defeitos superficiais localizados a coronal da junção amelocimentária ou na ponta das cúspides, sem envolvimento dentinário
2	Defeitos superficiais localizados a coronal da junção amelocimentária ou na ponta das cúspides, com envolvimento dentinário

Tabela 2 - Critério patognómico para a avaliação do Índice da Erosão Dentária (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou, 2011)

As fotografias iniciais e finais dos elementos foram organizadas numa tabela comparativa, disponível na secção dos resultados deste estudo. Os dados recolhidos foram registados numa tabela em Excel, juntamente com uma classificação descritiva e com estes foi calculada a moda para que pudesse ser feita a análise estatística dos resultados do estudo.

Todas as observações à lupa foram realizadas por dois indivíduos distintos, a duplo cego. Cada indivíduo classificou cada espécime consoante a existência ou não de defeitos erosivos, atribuindo uma pontuação de 1 ou 0, respetivamente. As respetivas classificações foram organizadas numa tabela, tendo sido posteriormente calculado o índice de Kappa para validar a concordância interexaminador.

2 – Observação ao Microscópio Eletrónico de Varrimento

No final dos ciclos de imersão, um espécime de cada subgrupo foi analisado com o microscópio eletrónico de varrimento (JEOL JSM-700001F). As amostras foram previamente entregues no Laboratório de Microscopia Eletrónica do Instituto Superior Técnico para efetuar a metalização dos mesmos. Os espécimes foram recobertos com uma liga de Ouro/Paládio a 20mA e 1,4kV durante 3 minutos usando um sputter coater Polaron. As fotografias podem ser encontradas na secção dos resultados.

3 – Teste de Microdureza de Vickers

O teste de microdureza de Vickers foi efetuado ao tempo inicial do grupo controlo (antes do início do protocolo de imersão) e ao tempo final de todos os grupos (após o fim do protocolo de imersão). As medições de dureza foram realizadas em todos os espécimes de cada grupo, com exceção das amostras destinadas à observação ao microscópio eletrónico de varrimento. Foi usada a máquina HSV-30[®] (Shimadzu), com uma carga de 29,42 N durante 5 segundos (Fig, 8 e 9). Foram realizadas 5 indentações aquando da medição de dureza (Fig 10), o que perfaz 500 indentações no total: 100 medições iniciais no grupo controlo e 400 medições de dureza finais em todos os grupos (exceto as 8 amostras enviadas para microscopia eletrónica). Foi calculada a média e o desvio padrão de dureza de cada elemento e de cada subgrupo. Os resultados foram organizados numa tabela comparativa, disponível na secção dos resultados.

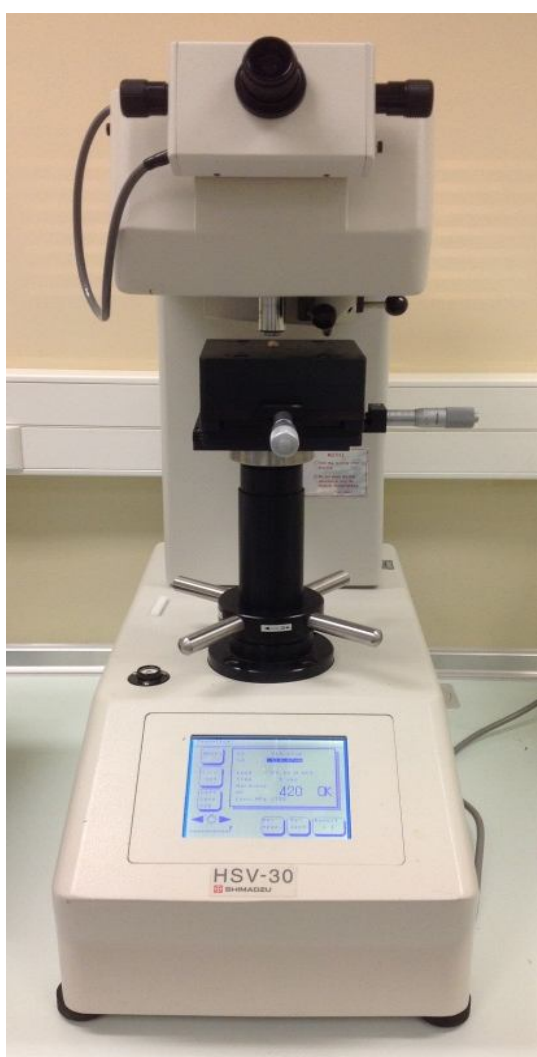


Figura 8 - Máquina HSV-30[®] (Shimadzu)

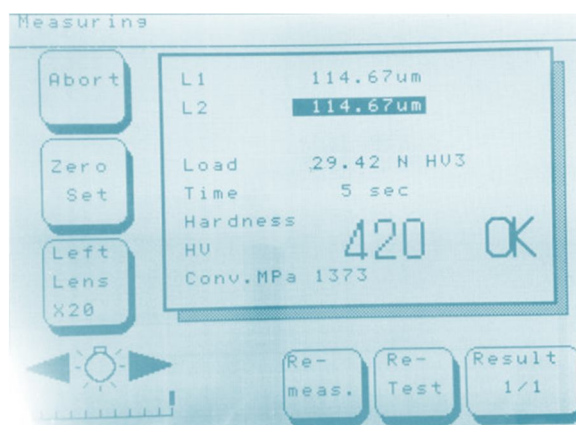


Figura 9 - Exemplo de medição de dureza

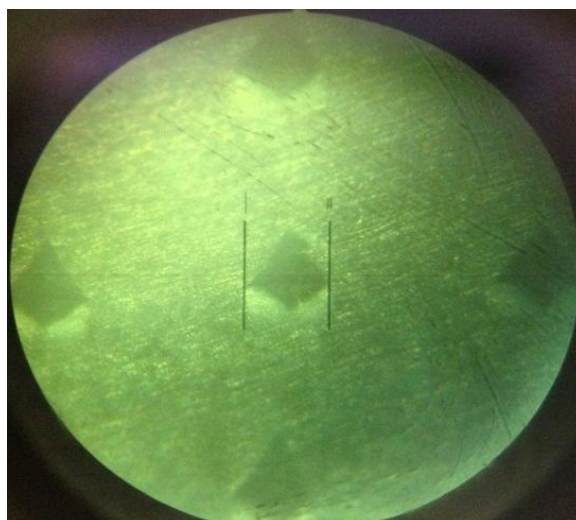


Figura 10 - Exemplo de 5 indentações numa amostra

J) Análise Estatística

Relativamente às observações realizadas na lupa estereomicroscópica, foi utilizado um método descritivo, adotando-se a moda como medida de tendência central. Foi determinada a prevalência das lesões erosivas em cada subgrupo.

Por outro lado, nos resultados de dureza utilizou-se a média como medida de tendência central e o desvio padrão como medida de dispersão. A significância da diferença entre a dureza média do grupo controlo e dos grupos de estudo foi avaliada com o teste ANOVA a um fator (one-way). Os pressupostos deste método estatístico, nomeadamente as normalidades das distribuições e a homogeneidade de variâncias, foram avaliados com o teste de Kolmogorov-Smirnov e de Levene, respetivamente. Consideraram-se estatisticamente significativas as diferenças cujo *p-value* do teste for inferior ou igual a 0,05. Uma vez rejeitada a hipótese nula no teste ANOVA, foi realizado o teste de Bonferroni para efetuar a comparação múltipla de médias dos grupos.

III – RESULTADOS

A) Caracterização dos Fármacos

Cada um dos fármacos em estudo foi caracterizado recorrendo aos folhetos informativos correspondentes (Infarmed – bula do medicamento Ventilan[®], 2014; Infarmed – bula do medicamento Claritine[®], 2014; Infarmed – bula do medicamento Vicks[®], 2011). Os fármacos escolhidos para este estudo pertencem a categorias farmacológicas diferentes.

O Ventilan[®] (xarope de sulfato de salbutamol a 0,4 mg/ml, Glaxo Smith Kline) é um broncodilatador agonista adrenérgico beta-2, que está indicado para o tratamento dos sintomas associados à obstrução reversível das vias respiratórias (como broncospasmo e asma brônquica). Além do seu princípio ativo, contém vários excipientes na sua composição, mas o ácido cítrico monohidratado e o citrato de sódio são os componentes de maior interesse para a predição do seu potencial erosivo. Em adultos, está indicada a administração de 10 ml, 3 a 4 vezes/dia.

Já o fármaco Claritine[®] (xarope de loratadina a 1 mg/ml, Merck Sharp & Dohme) é um anti-histamínico usado na redução dos sintomas de alergia, rinite alérgica e urticária. Dos seus excipientes, o ácido cítrico anidro é o único componente relevante para o processo erosivo. A posologia em adultos é de 10 ml, 1 vez/dia.

Por último, o Vicks[®] (xarope de guaifenesina a 13,33 mg/ml, laboratórios Vicks, S.L.) é um expetorante indicado para o tratamento da tosse produtiva (tosse com expetoração). De notar que também contém citrato de sódio anidro e ácido cítrico anidro, excipientes acídicos importantes para a erosão dentária. Em adultos, a toma indicada é de 15 ml até 4 a 6 vezes/dia.

A informação anterior pode ser encontrada no quadro-resumo a seguir (tabela 3).

	Ventilan®	Claritine®	Vicks®
Princípio ativo	Sulfato de Salbutamol	Loratadina	Guaifenesina
Concentração	0,4 mg/mL	1 mg/mL	13,33 mg/mL
Classificação	Broncodilatador agonista adrenérgico beta-2	Anti-histamínico	Expetorante
Indicações	Tratamento dos sintomas do broncospasmo na asma brônquica e outros estados associados à obstrução reversível das vias respiratórias	Redução dos sintomas de alergia, associados à rinite alérgica e à urticária	Tratamento da tosse produtiva (expetoração)
Outros componentes	Hipromelose Citrato de sódio Sarina sódica Ácido cítrico mono-hidratado Cloreto de sódio Benzoato de sódio Aroma de laranja Água purificada	Propilenoglicol Glicerina Ácido cítrico anidro Benzoato de sódio Sacarose Essência artificial de pêssego Água purificada	Sacarose Sacarina sódica Propilenoglicol Etanol Citrato de sódio anidro Ácido cítrico anidro Carmelose Óxido de polietileno Aroma de mel e gengibre Aroma de verbena Levomentol Estearato de macrogol Benzoato de sódio Água purificada
Administração	Via oral - xarope	Via oral - xarope	Via oral - xarope
Forma física	Líquido	Líquido	Líquido
Dose	Adultos: 10mL – 3/4x/dia	Adultos: 10ml – 1x/dia	Adultos: 15mL – até 4/6x/dia
Embalagem	Frasco com 200 mL	Frasco com 120 mL	Frasco com 120 mL
Conservação	Menos de 30°C	Não congelar	Menos de 25°C
Fabricante	Glaxo Smith Kline	Merck Sharp & Dohme	Laboratórios Vicks,S.L.
Lote	N005	4ANNA08001	4233028823
Validade	01/2017	12/2015	07/2017

Tabela 3 – Comparação das características dos fármacos

B) Comparação das Propriedades Químicas dos Fármacos

Em cada fármaco foi determinado o valor de pH intrínseco e a sua acidez titulável, bem como o volume de base forte (NaOH a 0,1 M) gasto e o tempo de titulação até atingir o pH neutro. Todos os fármacos em estudo possuem um pH ácido. O Ventilan[®] apresentou 3,87 de pH e 85 mmol/L de acidez titulável (17 mL de base gastos em 14,2 minutos). Relativamente ao fármaco Claritine[®], este tem um pH de 3,08 e uma acidez titulável de 70 mmol/L (14 mL de base gastos em 11,7 minutos). Por fim, o xarope Vicks[®] apresentou 5,15 de pH e 25 mmol/L de acidez titulável (5 mL de base gastos em 4,2 minutos). Seguidamente, encontra-se um quadro comparativo das propriedades químicas de cada fármaco em estudo (tabela 4).

	Ventilan[®]	Claritine[®]	Vicks[®]
pH (médio)	3,87	3,08	5,15
Volume de NaOH a 0,1M (médio)	17 mL	14 mL	5 mL
Acidez titulável (média)	85 mmol/L	70 mmol/L	25 mmol/L
Tempo de titulação (médio)	14,2 min	11,7 min	4,2 min

Tabela 4 – Comparação das propriedades químicas dos fármacos

C) Análise da Superfície à Lupa Estereomicroscópica

Usando o Índice da Erosão Dentária (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou, 2011), as amostras de cada grupo foram classificadas em 0 (“ausência de desgaste erosivo”) ou 1 (“defeitos superficiais sem envolvimento dentinário”). O registo das pontuações atribuídas às amostras dos grupos A, B, C e D pode ser encontrado nas tabelas seguintes 5 a 8, respetivamente.

Grupo A (Ventilan[®])					
Subgrupo A1 – Sem Verniz de Flúor			Subgrupo A2 – Com Verniz de Flúor		
Amostra	Pontuação		Amostra	Pontuação	
	Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC		Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC
A1	0	1	A12	1	1
A2	1	1	A13	1	1
A3	0/1	1	A14	0	0
A4	1	1	A15	1	0
A5	1	1	A16	0	0
A6	1	1	A17	0	0
A7	1	1	A18	0	0/1
A8	1	1	A19	0	0
A9	1	1	A20	0	1
A10	1	1	A21	0	0
A11	1	1	A22	0	0

Tabela 5 – Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo A, segundo o Índice da Erosão Dentária

Grupo B (Claritine[®])					
Subgrupo B1 – Sem Verniz de Flúor			Subgrupo B2 – Com Verniz de Flúor		
Amostra	Pontuação		Amostra	Pontuação	
	Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC		Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC
B1	0	0	B12	0	1
B2	0	1	B13	0	1
B3	0	0	B14	0	1
B4	1	1	B15	0	0/1
B5	1	1	B16	0	0
B6	1	1	B17	0	0
B7	1	1	B18	0	0
B8	0	1	B19	0	0
B9	1	0/1	B20	0	0
B10	1	0	B21	0	1
B11	1	1	B22	0/1	0

Tabela 6 - Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo B, segundo o Índice da Erosão Dentária

Grupo C (Vicks®)					
Subgrupo C1 – Sem Verniz de Flúor			Subgrupo C2 – Com Verniz de Flúor		
Amostra	Pontuação		Amostra	Pontuação	
	Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC		Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC
C1	0/1	0/1	C12	1	1
C2	0	0	C13	1	0/1
C3	1	1	C14	0	1
C4	1	0	C15	0	0
C5	0	1	C16	1	0
C6	1	1	C17	0	1
C7	1	0/1	C18	0/1	0
C8	1	1	C19	0	0/1
C9	1	0/1	C20	0	0/1
C10	1	0	C21	1	0
C11	1	1	C22	0	0

Tabela 7- Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo C, segundo o Índice da Erosão Dentária

Grupo D (Controlo – Água Destilada)					
Subgrupo D1 – Sem Verniz de Flúor			Subgrupo D2 – Com Verniz de Flúor		
Amostra	Pontuação		Amostra	Pontuação	
	Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC		Ponta da cúspide	1/3 médio e JAC
D1	0	0	D12	0	0
D2	0	0	D13	0	0
D3	0	0	D14	0	0
D4	0	0	D15	0	0
D5	0	0	D16	0	0
D6	0	0	D17	0	0
D7	0	0	D18	0	0
D8	0	0	D19	0	0
D9	0	0	D20	0	0
D10	0	0	D21	0	0
D11	0	0	D22	0	0

Tabela 8 - Registo das pontuações atribuídas às amostras do grupo D, segundo o Índice da Erosão Dentária

1 - Comparação do potencial erosivo dos distintos fármacos

Para comparar o potencial erosivo dos fármacos recorrendo à lupa estereomicroscópica, as pontuações dos subgrupos em estudo sem verniz de flúor (A1, B1 e C1) foram confrontadas com as pontuações do subgrupo controlo sem verniz de flúor (D1). Depois, foi calculada a moda de cada subgrupo, assim como a prevalência das lesões de erosão segundo a sua localização e a prevalência média por subgrupo. Estes dados podem ser encontrados na tabela seguinte (tabela 9), seguida por uma imagem representativa das alterações no esmalte encontradas em cada subgrupo (figura 11).

Subgrupo	Localização	Moda	Prevalência	Prevalência Média
A1 (Ventilan [®])	Ponta da cúspide	1	≈ 86%	93%
	1/3 médio e JAC	1	100%	
B1 (Claritine [®])	Ponta da cúspide	1	≈ 63%	66%
	1/3 médio e JAC	1	≈ 68%	
C1 (Vicks [®])	Ponta da cúspide	1	≈ 77%	68%
	1/3 médio e JAC	1	≈ 59%	
D1 (Controlo)	Ponta da cúspide	0	0%	0%
	1/3 médio e JAC	0	0%	

Tabela 9 – Moda e prevalência das lesões de erosão dos subgrupos sem flúor, por localização

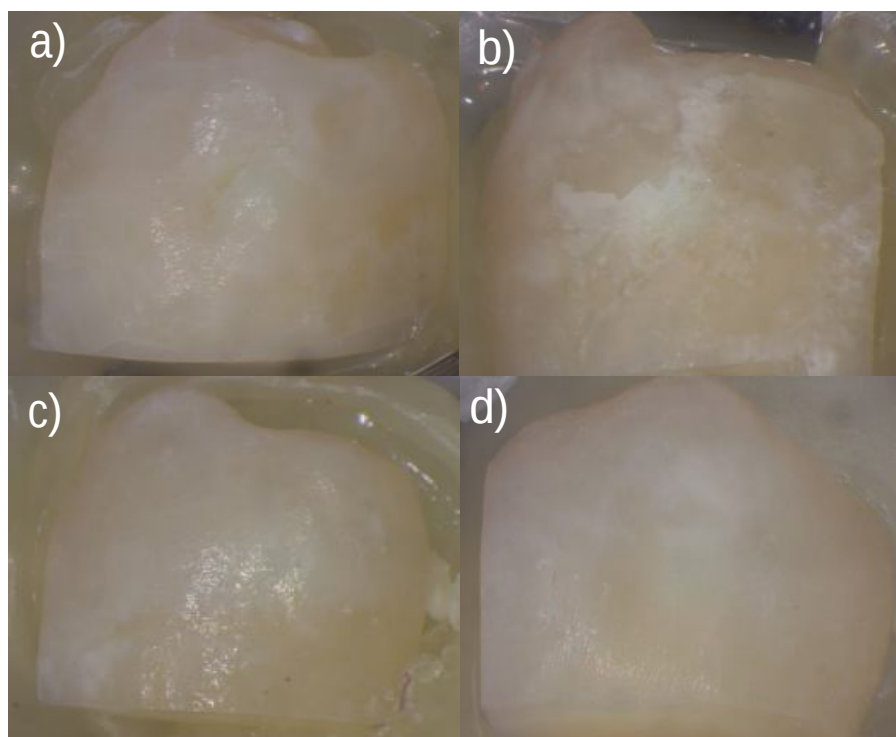


Figura 11 – Fotografias representativas dos subgrupos sem verniz de flúor:
a) subgrupo A1; b) subgrupo B1; c) subgrupo C1; d) subgrupo D1

2 - Comparação do potencial remineralizante do verniz de flúor

Para comparar o potencial remineralizante do verniz de flúor recorrendo à lupa estereomicroscópica, as pontuações dos subgrupos em estudo com verniz de flúor (A2, B2 e C2) foram confrontadas com as pontuações do subgrupo controlo com verniz de flúor (D1). Em cada subgrupo, foi calculada a moda, a prevalência das lesões de erosão segundo a sua localização e a prevalência média. Estes valores podem ser encontrados na tabela seguinte (tabela 10), seguindo-se uma imagem representativa das alterações no esmalte em cada subgrupo (figura 12).

Subgrupo	Localização	Moda	Prevalência	Prevalência Média
A2 (Ventilan [®])	Ponta da cúspide	0	≈ 27%	≈ 30 %
	1/3 médio e JAC	0	≈ 32%	
B2 (Claritine [®])	Ponta da cúspide	0	≈ 5%	23 %
	1/3 médio e JAC	0	≈ 41%	
C2 (Vicks [®])	Ponta da cúspide	0	≈ 41 %	41 %
	1/3 médio e JAC	0	≈ 41 %	
D2 (Controlo)	Ponta da cúspide	0	0 %	0%
	1/3 médio e JAC	0	0 %	

Tabela 10 – Moda e prevalência das lesões de erosão dos subgrupos com flúor, por localização

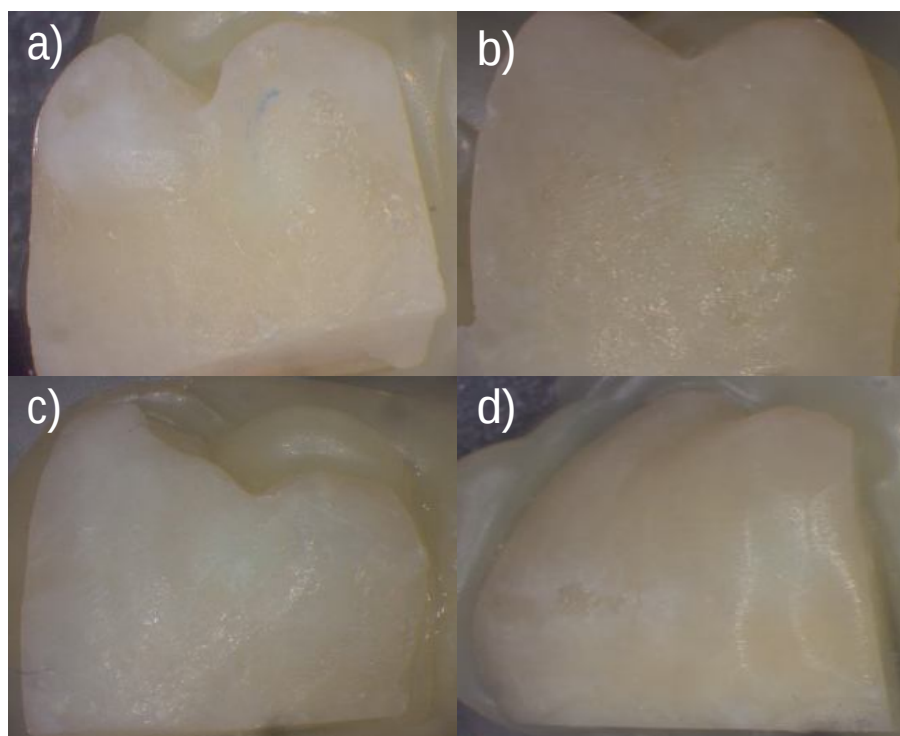


Figura 12 – Fotografias representativas dos subgrupos com verniz de flúor:
a) subgrupo A2; b) subgrupo B2; c) subgrupo C2; d) subgrupo D2

D) Análise da Superfície ao Microscópio Electrónico de Varrimento

Após o protocolo laboratorial de desmineralização e remineralização, um espécime de cada subgrupo foi aleatoriamente selecionado para ser observado por microscopia eletrónica de varrimento recorrendo a várias ampliações padronizadas.

a) Comparação do potencial erosivo dos distintos fármacos

Para comparar o potencial erosivo dos distintos fármacos, optou-se por analisar as diferenças nos subgrupos que foram submetidos às medicações sem flúor (A1, B1 e C1) com o subgrupo controlo sem flúor (D1).

As imagens representativas desta análise apresentam-se nas figuras 13 a 28: subgrupo A1 (Ventilan[®], sem verniz de flúor) (Fig. 13 a 16), subgrupo B1 (Claritine[®], sem verniz de flúor) (Fig. 17 a 20), subgrupo C1 (Vicks[®], sem verniz de flúor) (Fig. 21 a 24) e subgrupo D1 (controlo, sem verniz de flúor) (Fig. 25 a 28).

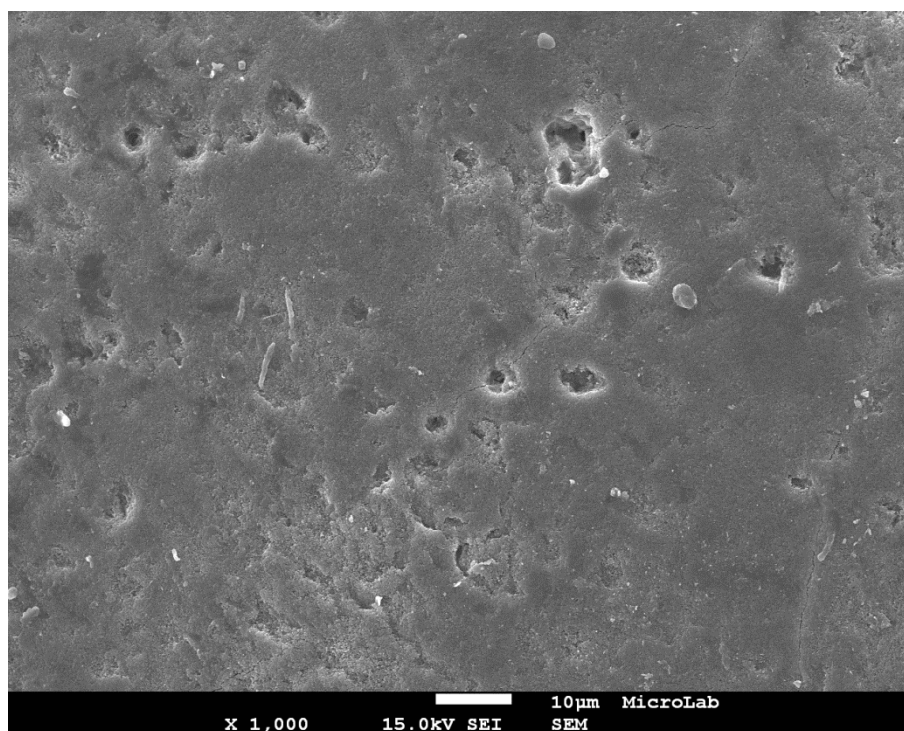


Figura 13 – Subgrupo A1 (Ventilan[®] sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido, sendo evidente o aumento da desorganização da superfície

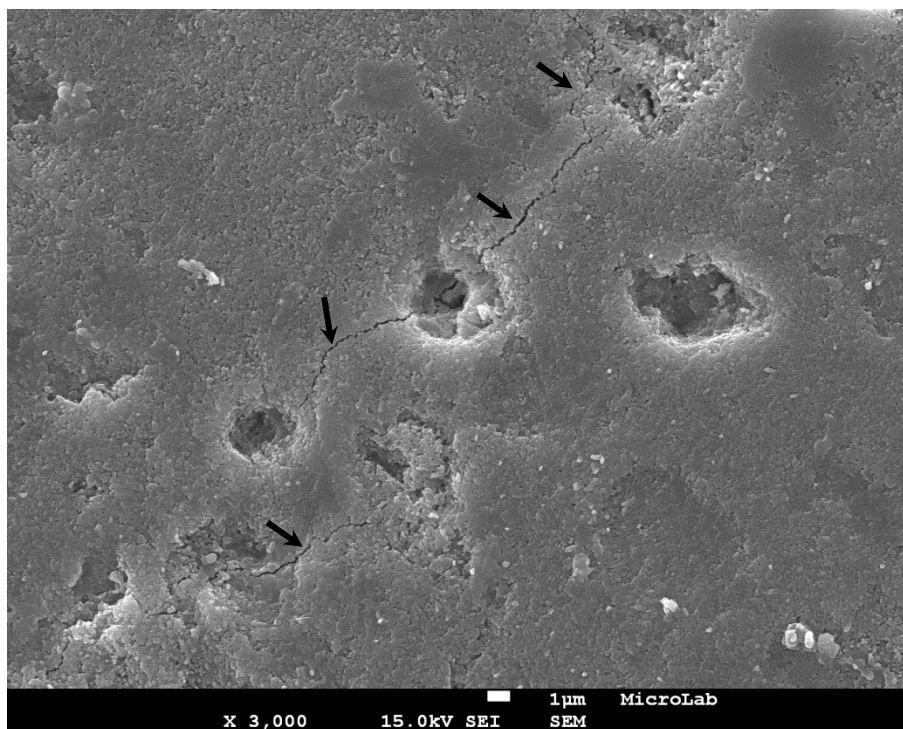


Figura 14 – Subgrupo A1 (Ventilan[®] sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido. É notória a presença de microcracks (setas) e a formação de crateras profundas.

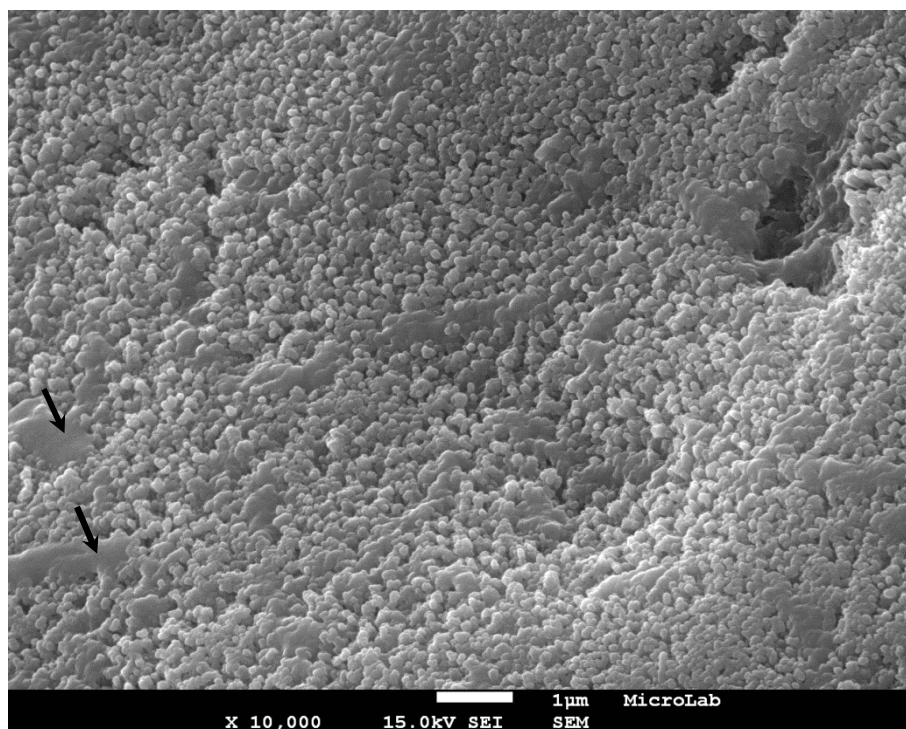


Figura 15 – Subgrupo A1 (Ventilan[®] sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, sendo notória a perda do aspeto nebuloso. A generalidade da superfície é mais rugosa devido à exposição parcial dos cristais de esmalte. As regiões de aspeto mais uniforme correspondem à permanência de matéria orgânica interprismática (setas).

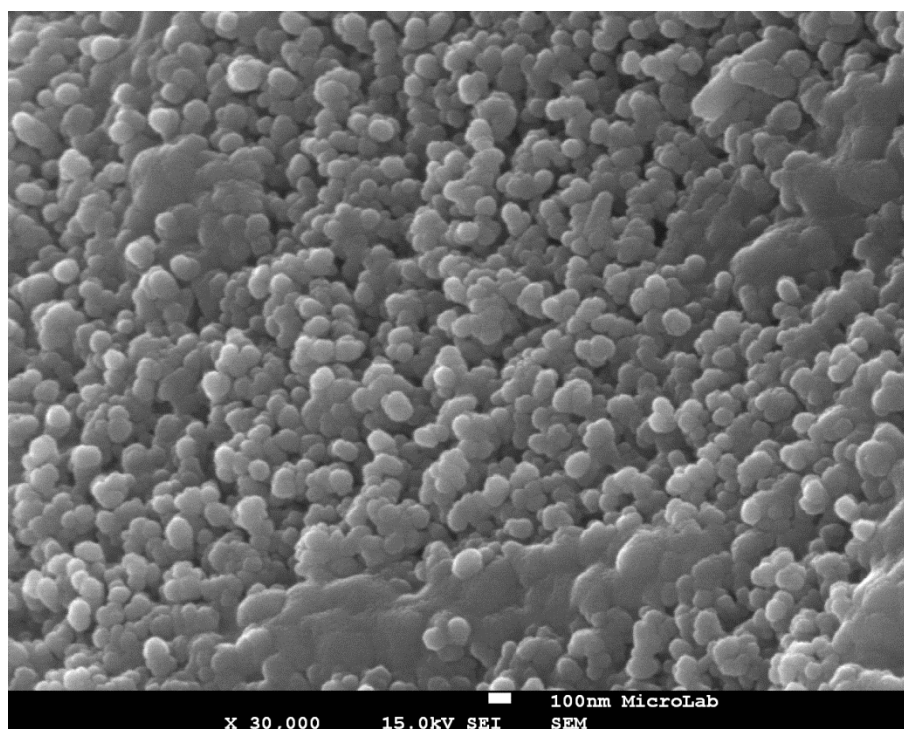


Figura 16 – Subgrupo A1 (Ventilan[®] sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido. É notória a desmineralização da superfície com a exposição parcial dos cristais de esmalte.

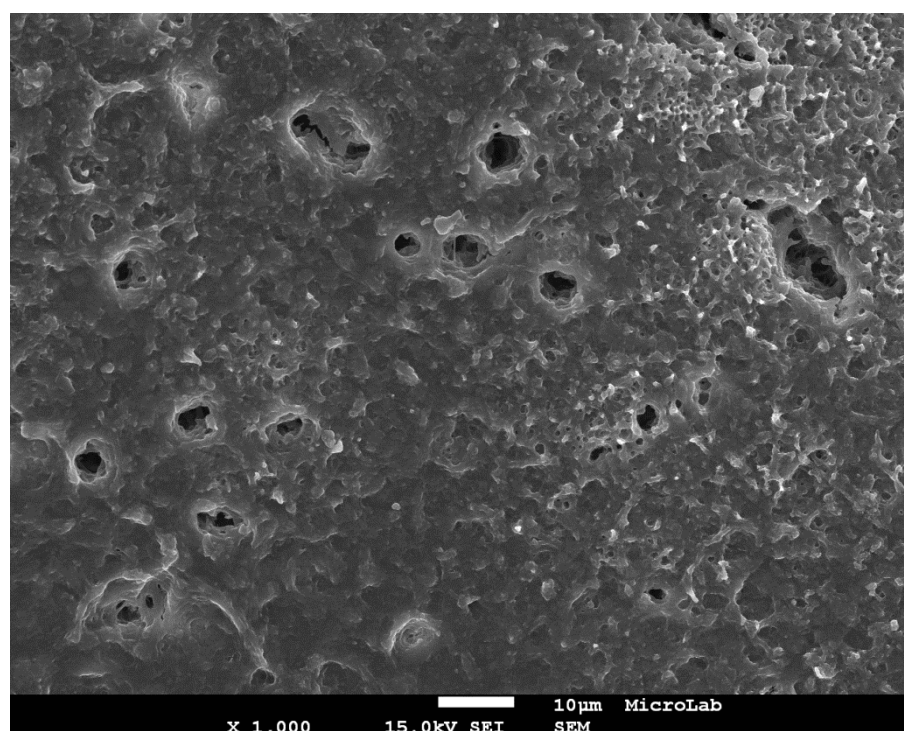


Figura 17 – Subgrupo B1 (Claritine[®] sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido, sendo evidente a elevada desorganização da superfície e a presença de crateras múltiplas.

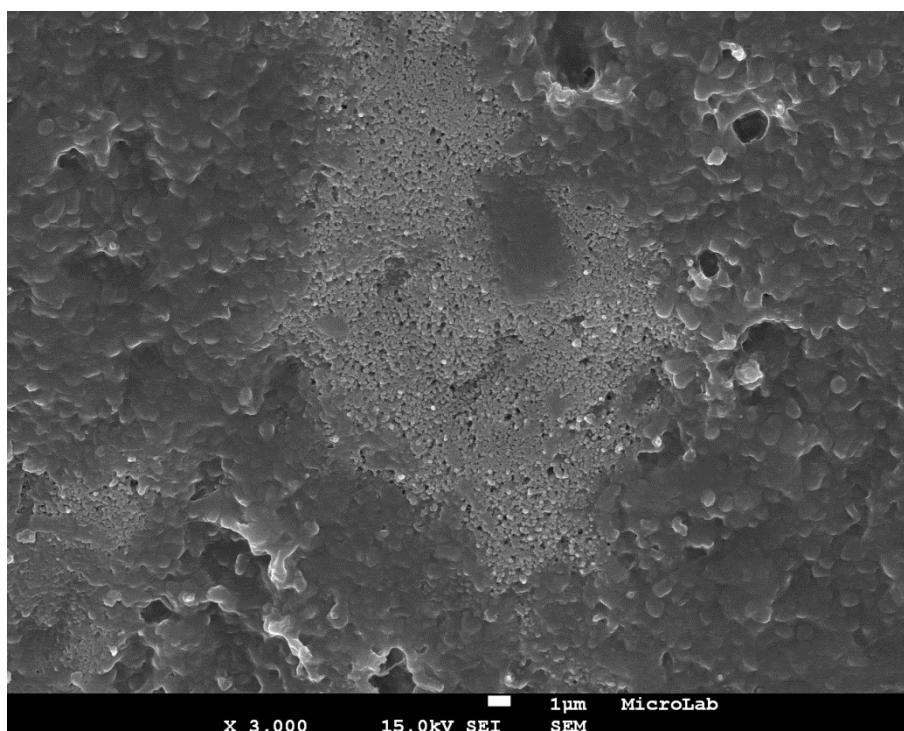


Figura 18 – Subgrupo B1 (Claritine® sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido. É notória a elevada desmineralização central, com a remoção da camada orgânica e exposição dos cristais de esmalte, em contraste com as regiões periféricas de aspeto mais escamoso.

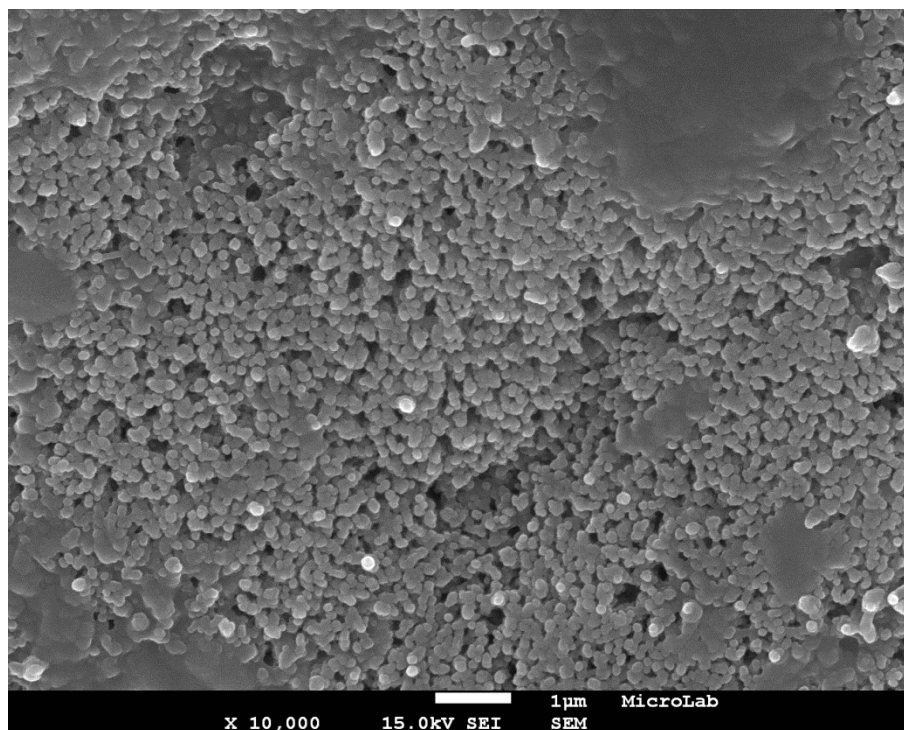


Figura 19 – Subgrupo B1 (Claritine® sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, sendo evidente a acentuada desmineralização com exposição parcial dos cristais de esmalte. Ainda é possível detetar regiões de conservação de matéria orgânica.

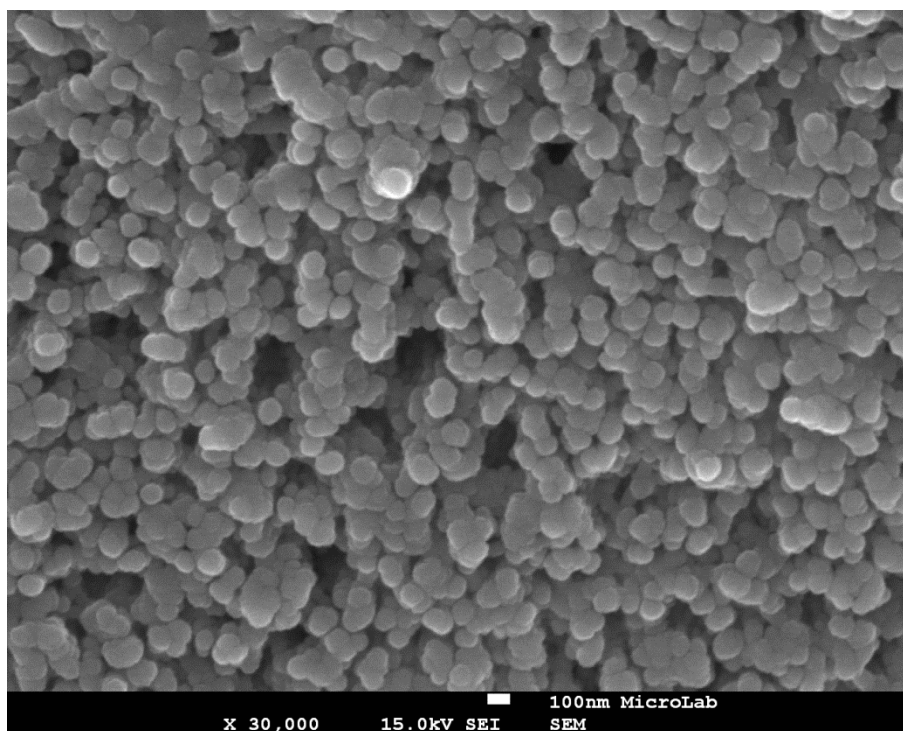


Figura 20 – Subgrupo B1 (Claritine® sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte.

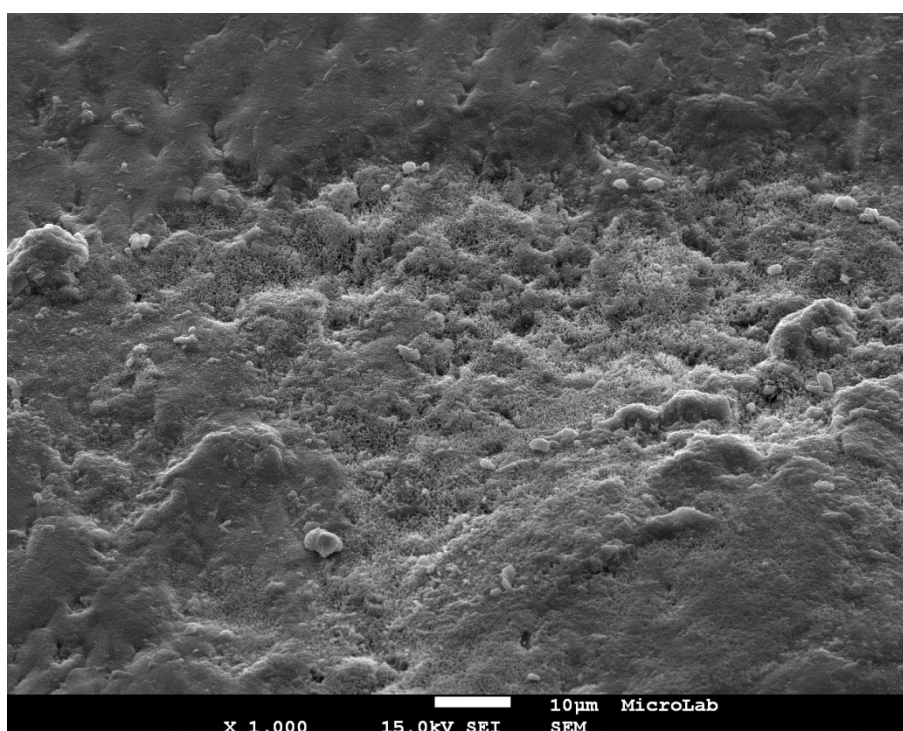


Figura 21 – Subgrupo C1 (Vicks® sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte erodido, sendo evidente a elevada desorganização da superfície.

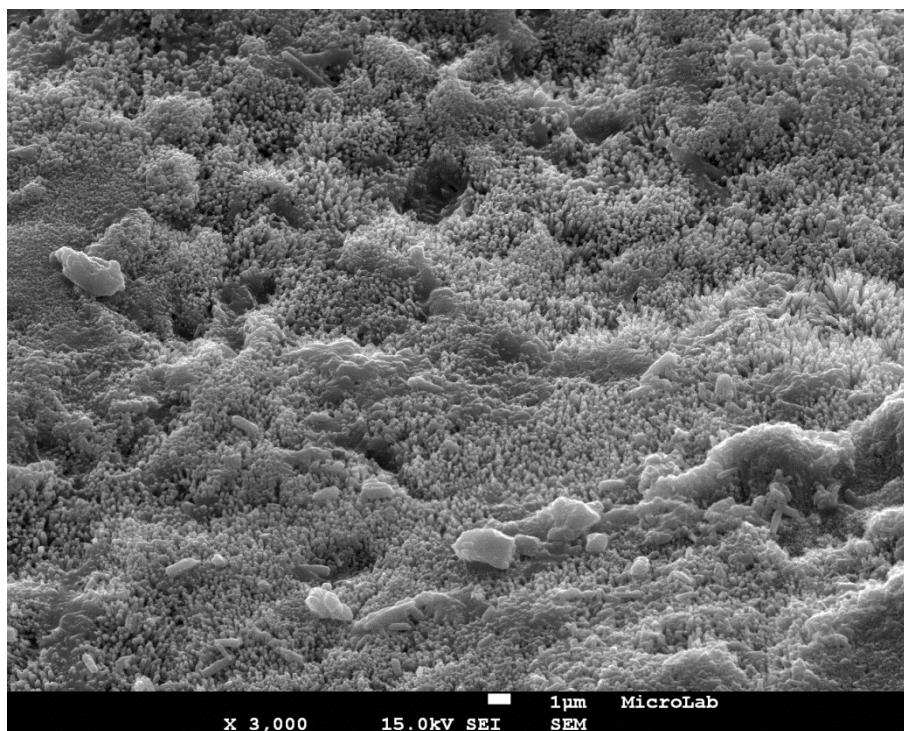


Figura 22 – Subgrupo C1 (Vicks[®] sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte.

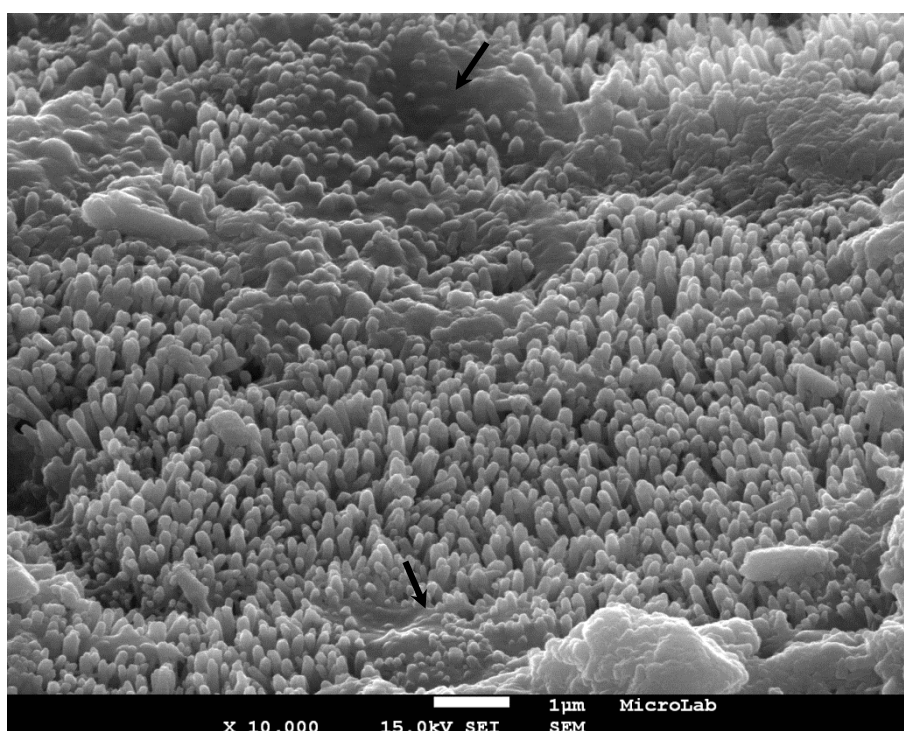


Figura 23 – Subgrupo C1 (Vicks[®] sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte e à permanência de alguma matéria orgânica interprismática (setas).

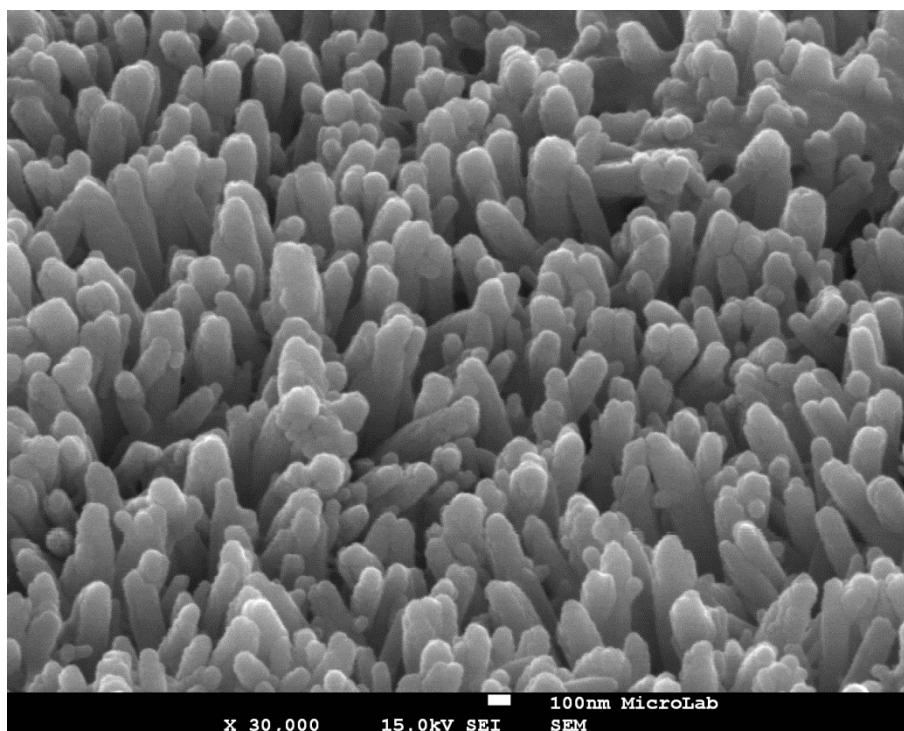


Figura 24 – Subgrupo C1 (Vicks® sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte erodido, com ênfase à exposição dos cristais de esmalte que apresentam diferentes orientações.

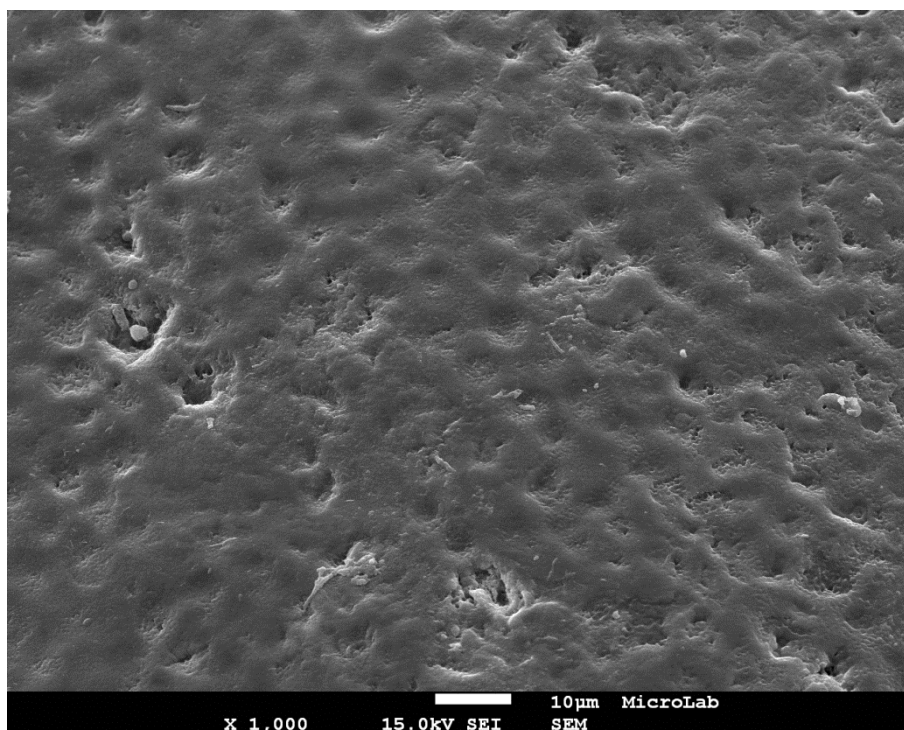


Figura 25 – Subgrupo D1 (controle sem flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte não erodido, sendo evidente a microrugosidade natural do mesmo

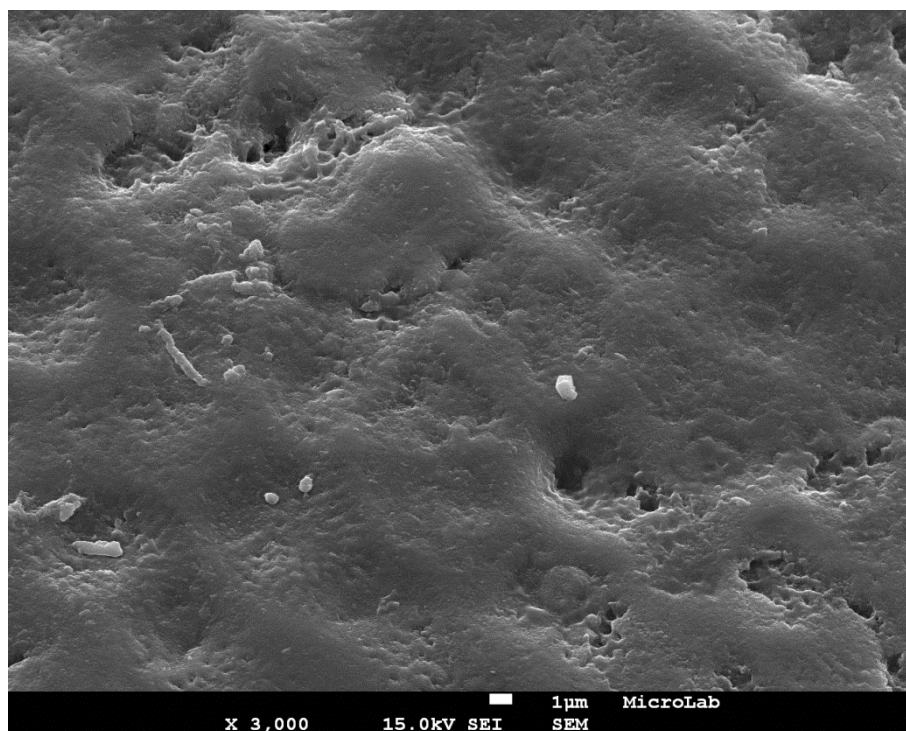


Figura 26 – Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte não erodido, sendo evidente a microrugosidade natural do mesmo

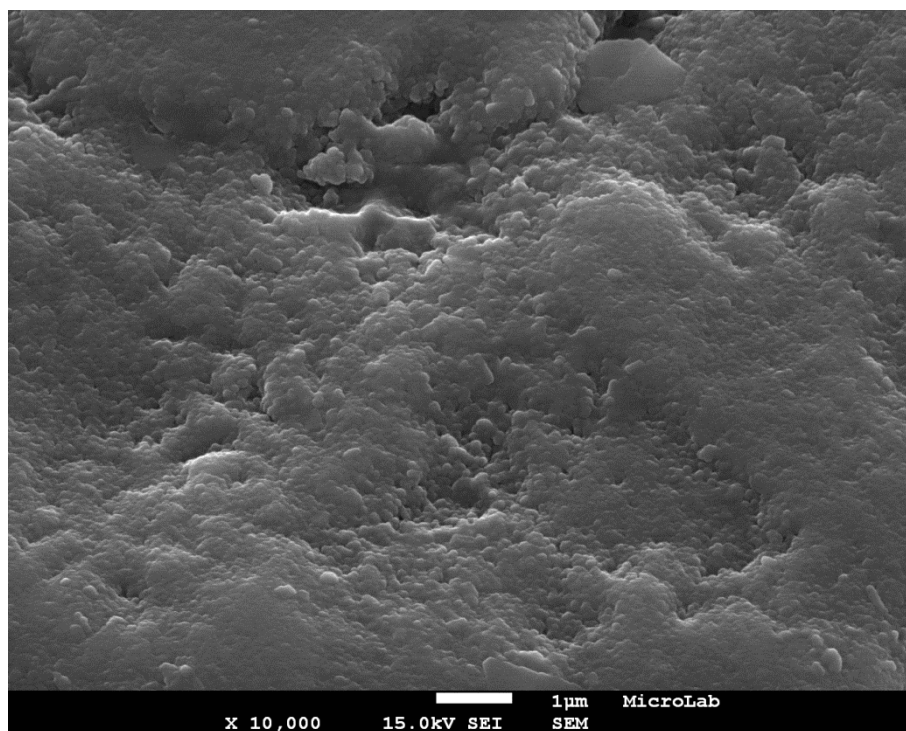


Figura 27 – Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido, sendo evidente a microrugosidade natural do mesmo.

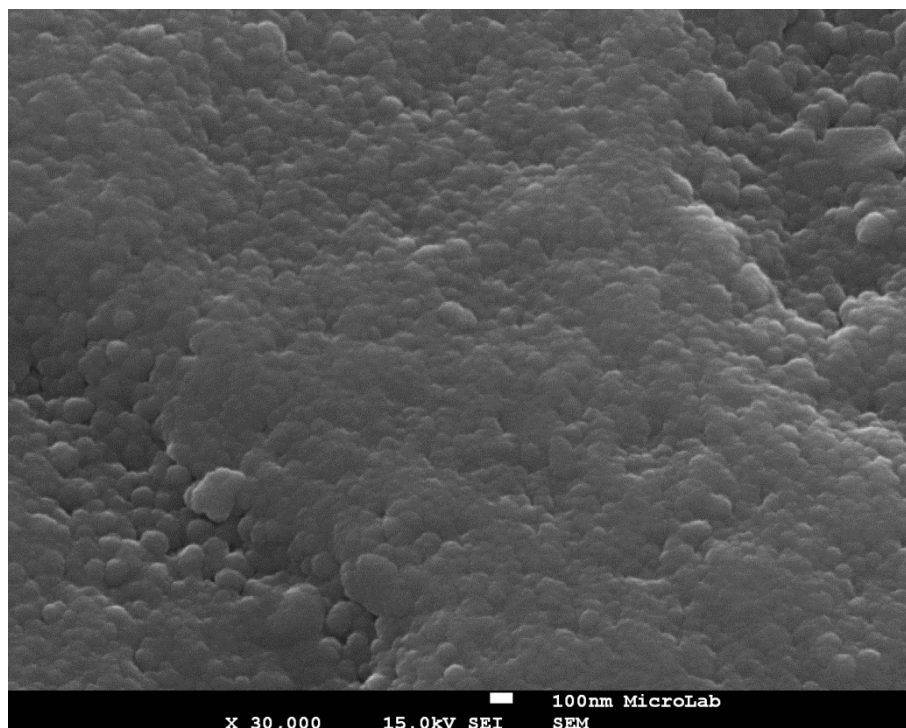


Figura 28 – Subgrupo D1 (controlo sem flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido, evidenciando a sua aparência nebulosa. Não há evidência de exposição dos cristais de esmalte.

b) Comparação do potencial remineralizante do verniz de flúor

Para comparar o potencial remineralizante do verniz de flúor, optou-se por analisar as diferenças entre os subgrupos submetidos aos respetivos fármacos e verniz de flúor (A2, B2 e C2) e o subgrupo controlo com flúor (D2).

As imagens representativas desta análise apresentam-se nas figuras 29 a 44: subgrupo A2 (submetido ao fármaco Ventilan[®] e verniz de flúor) (Fig. 29 a 32), subgrupo B2 (submetido ao fármaco Claritine[®] e verniz de flúor) (Fig. 33 a 36), subgrupo C2 (submetido ao fármaco Vicks[®] e verniz de flúor) (Fig. 37 a 40) e subgrupo D2 (controlo com flúor) (Fig. 41 a 44).

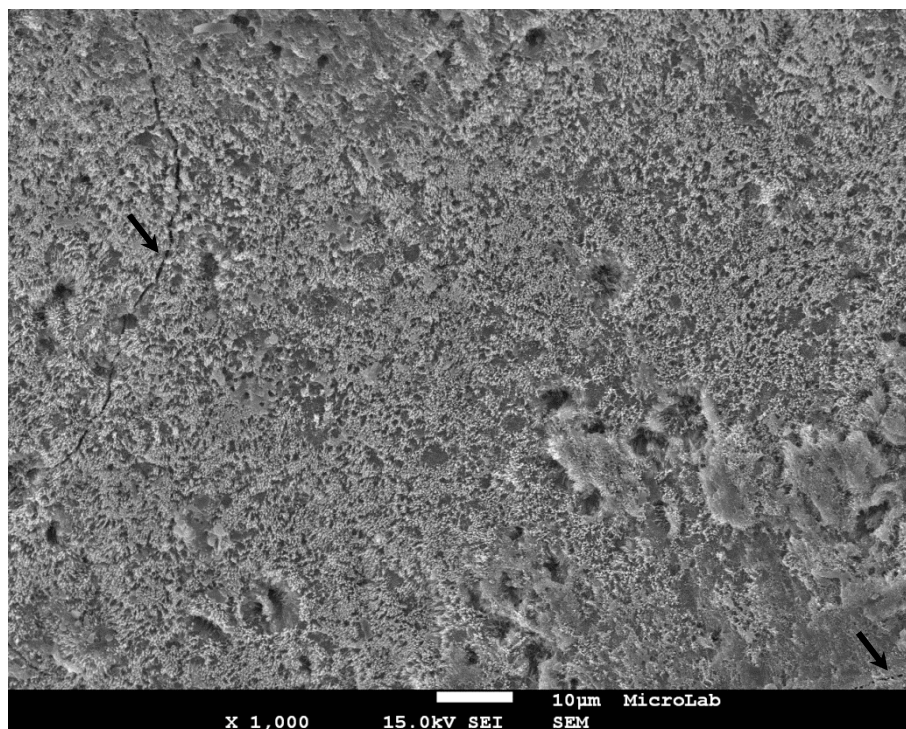


Figura 29 – Subgrupo A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, com remineralização generalizada da superfície, evidenciada pela oclusão interprismática de flúor. De notar também a presença de microcracks (setas) e de crateras ocasionais.

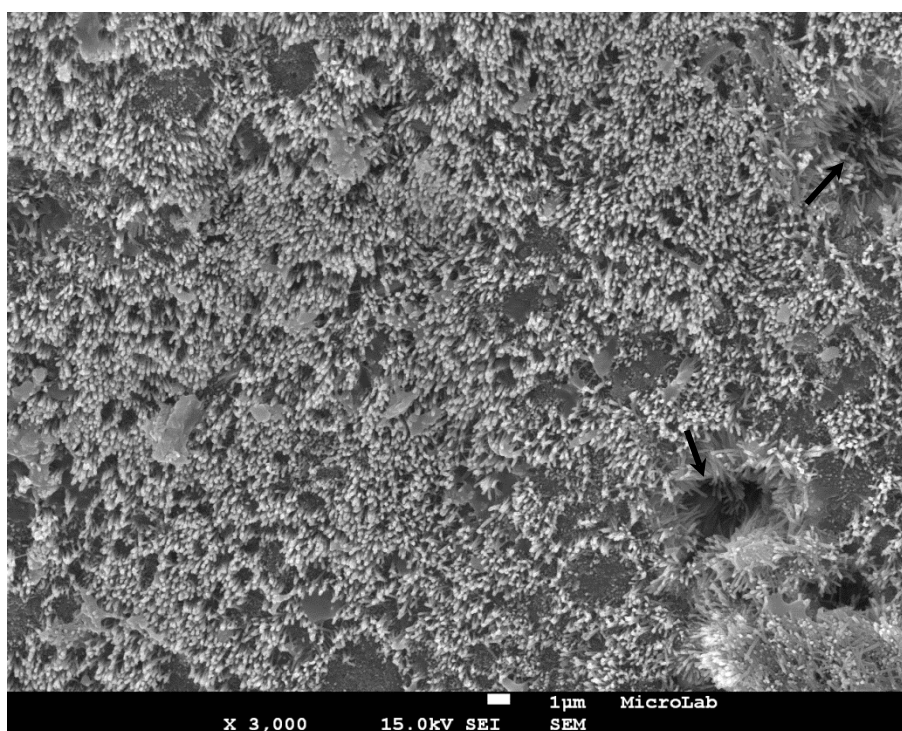


Figura 30 – Subgrupo A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada da superfície. Apesar dos cristais se encontrarem expostos, a grande maioria encontra-se íntegra. De notar os cristais com diferentes orientações que formam uma cratera profunda (setas).

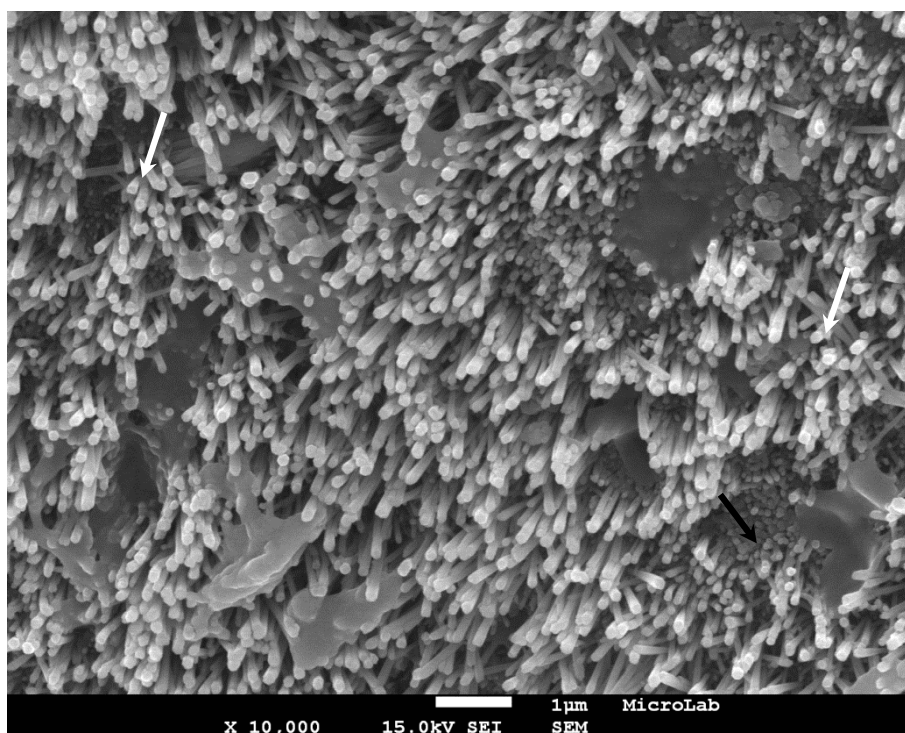


Figura 31 – Subgrupo A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. Apesar dos cristais se encontrarem expostos, a grande maioria encontra-se íntegra. De notar a existência de alguns cristais fraturados (seta negra) e de cristais com orientações distintas (setas brancas).

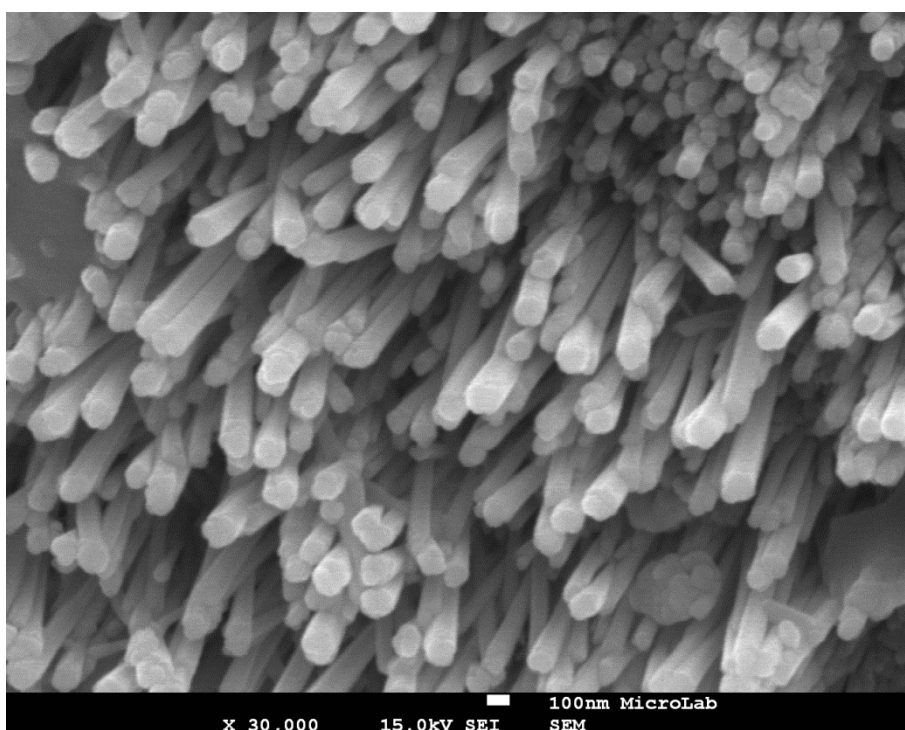


Figura 32 – Subgrupo A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada pela integridade dos cristais de esmalte. De notar as diferentes orientações dos cristais..

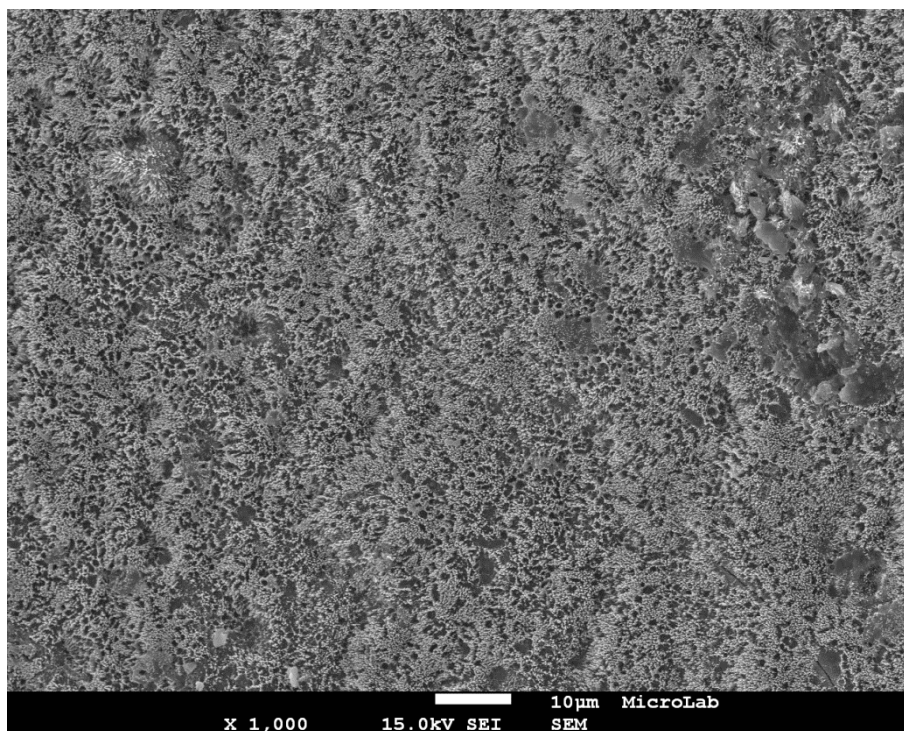


Figura 33 – Subgrupo B2 (Claritine® com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada.

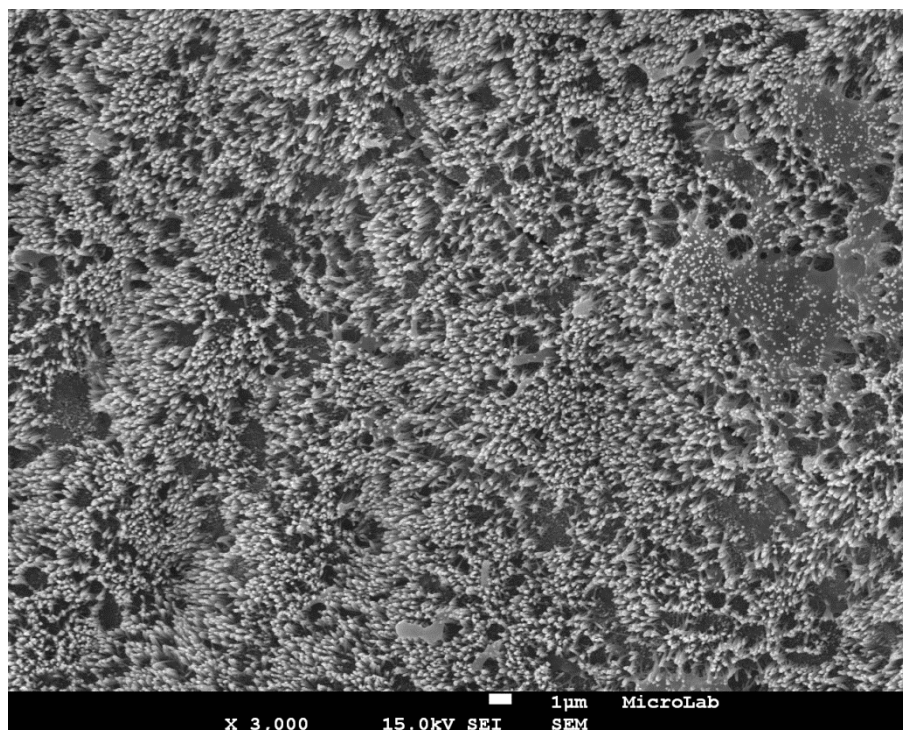


Figura 34 – Subgrupo B2 (Claritine® com verniz de flúor) (x3.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. É notória a presença de várias lacunas entre os cristais, assim como a conservação de alguma matéria orgânica.

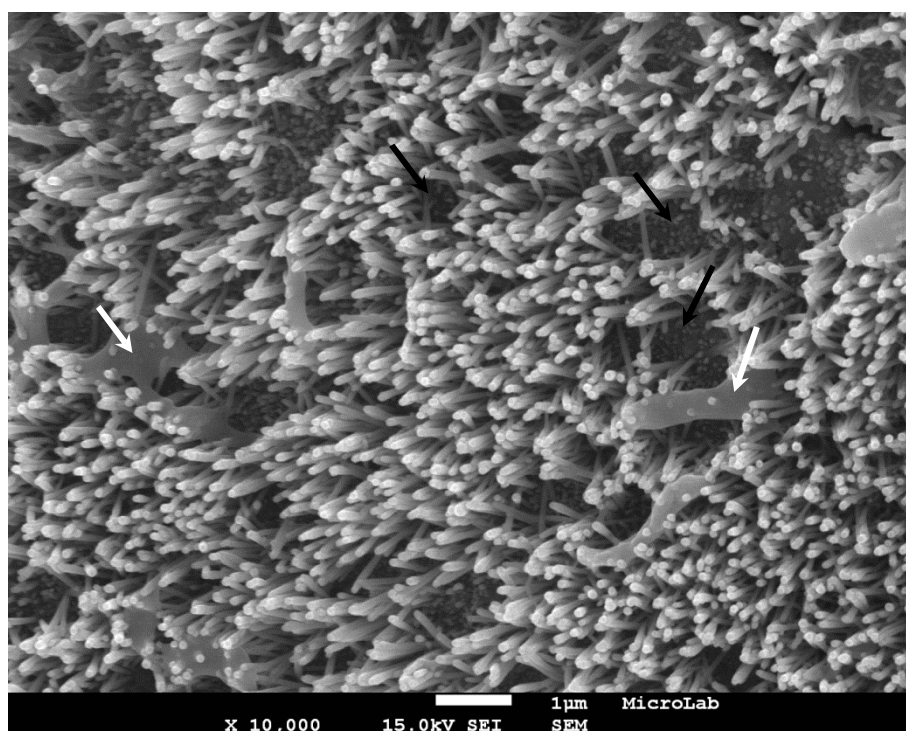


Figura 35 – Subgrupo B2 (Claritine® com verniz de flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. É notória a presença de várias lacunas entre os cristais (setas negras), assim como a conservação de alguma matéria orgânica (setas brancas).

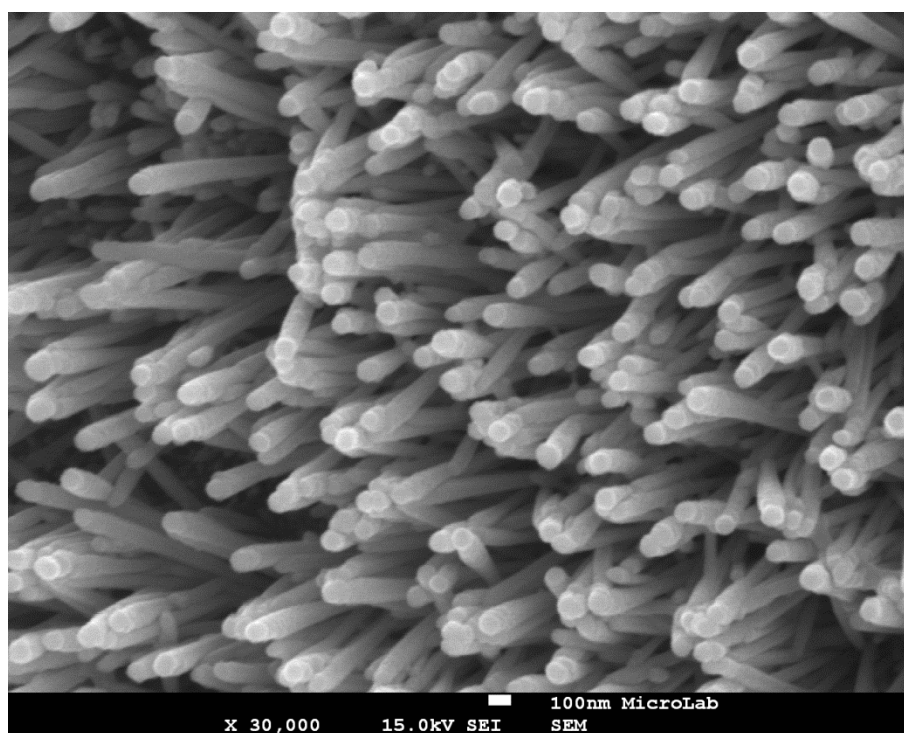


Figura 36 – Subgrupo B2 (Claritine® com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia em pormenor dos cristais de esmalte, com ênfase às diferentes orientações dos mesmos.

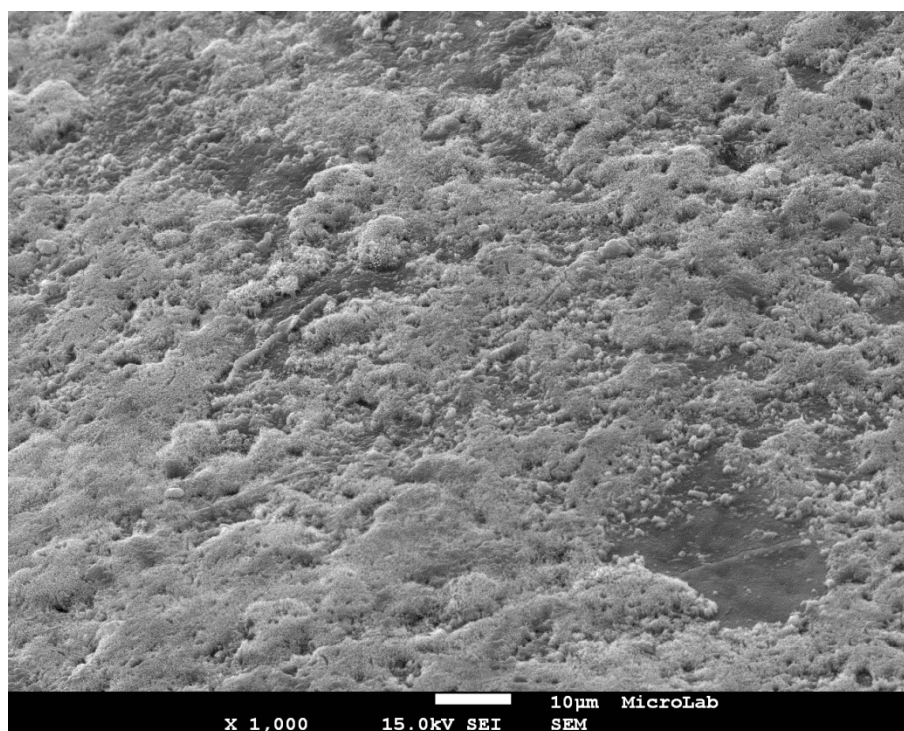


Figura 37 – Subgrupo C2 (Vicks[®] com verniz de flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada.

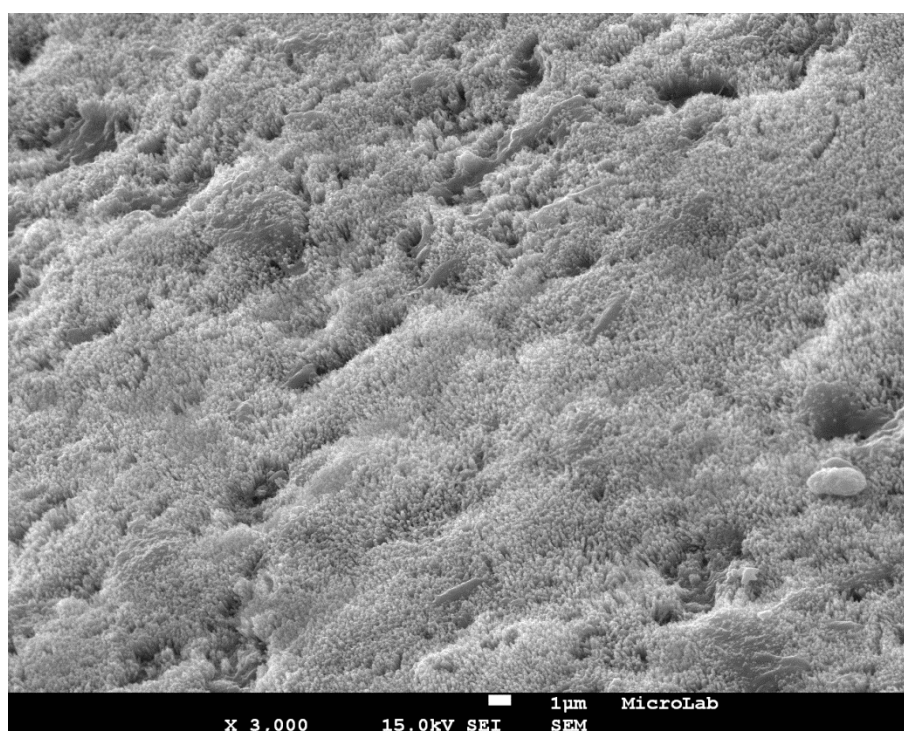


Figura 38 – Subgrupo C2 (Vicks[®] com verniz de flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada.

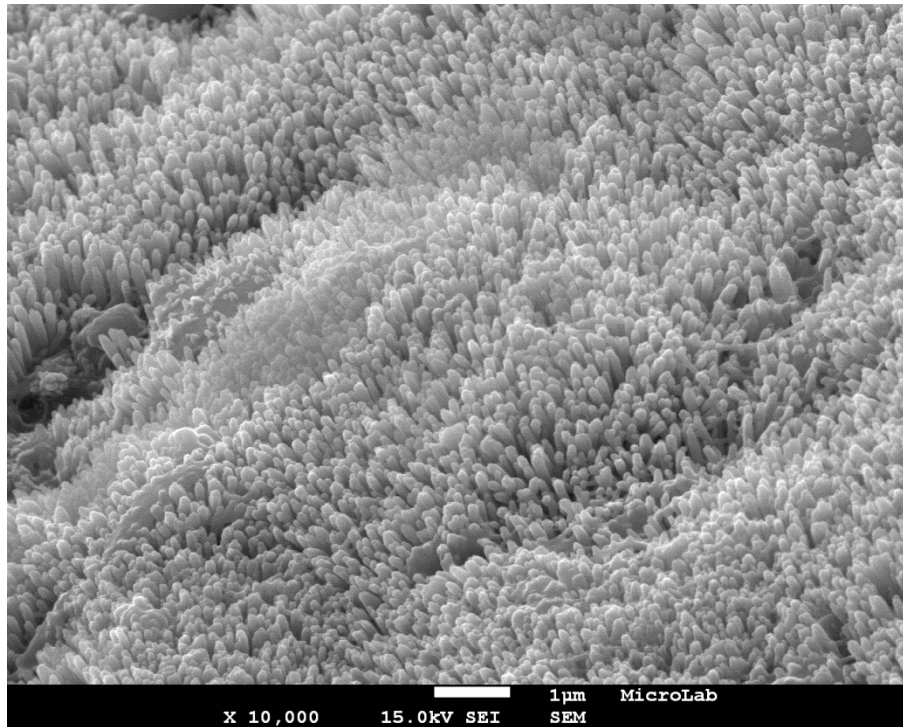


Figura 39 – Subgrupo C2 (Vicks[®] com verniz de flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte, sendo evidente a remineralização generalizada. A superfície é organizada e os cristais revelam-se íntegros com uma orientação semelhante entre si.

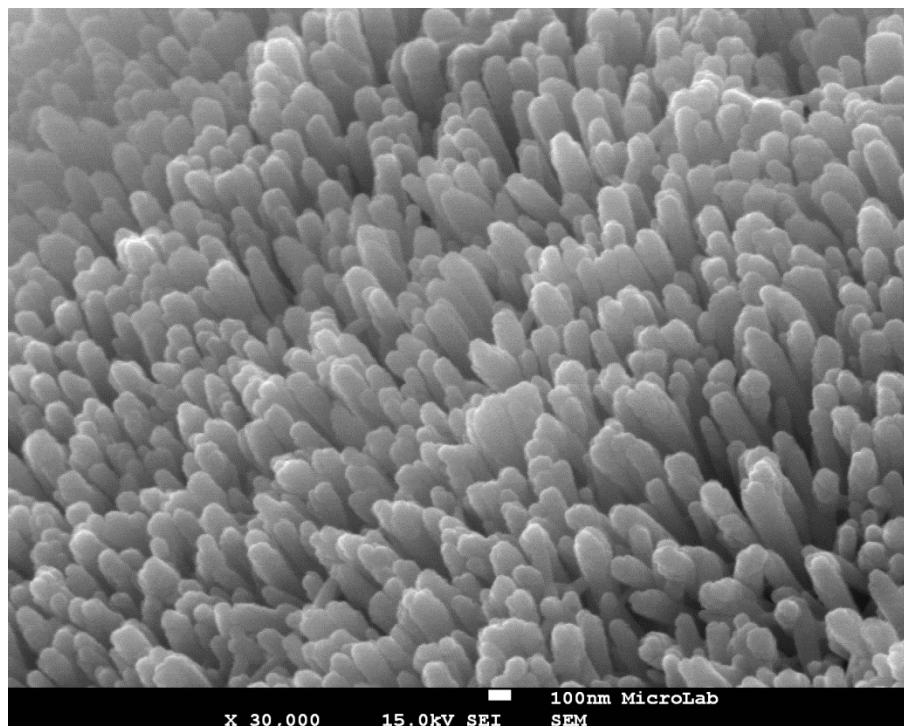


Figura 40 – Subgrupo C2 (Vicks[®] com verniz de flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor dos cristais de esmalte. De notar a orientação semelhante da generalidade dos cristais, assim como a conservação de uma bainha de matéria orgânica em redor dos mesmos.

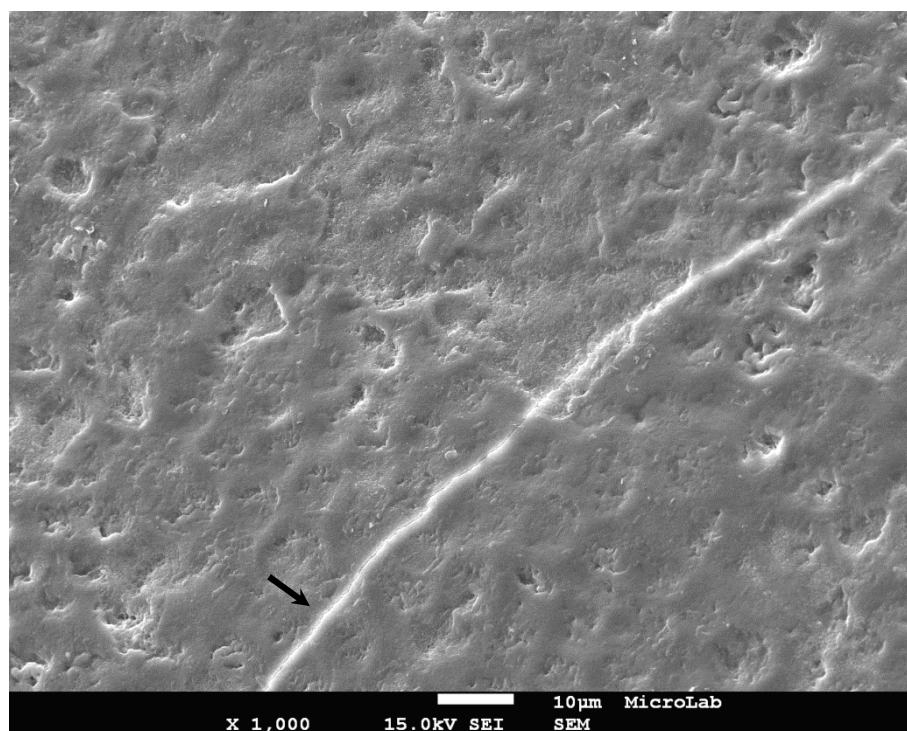


Figura 41 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x1.000) – Fotomicrografia panorâmica do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor, sendo evidente a microrugosidade natural da superfície. Também se identifica a presença de uma fratura de tensão por desidratação (seta).

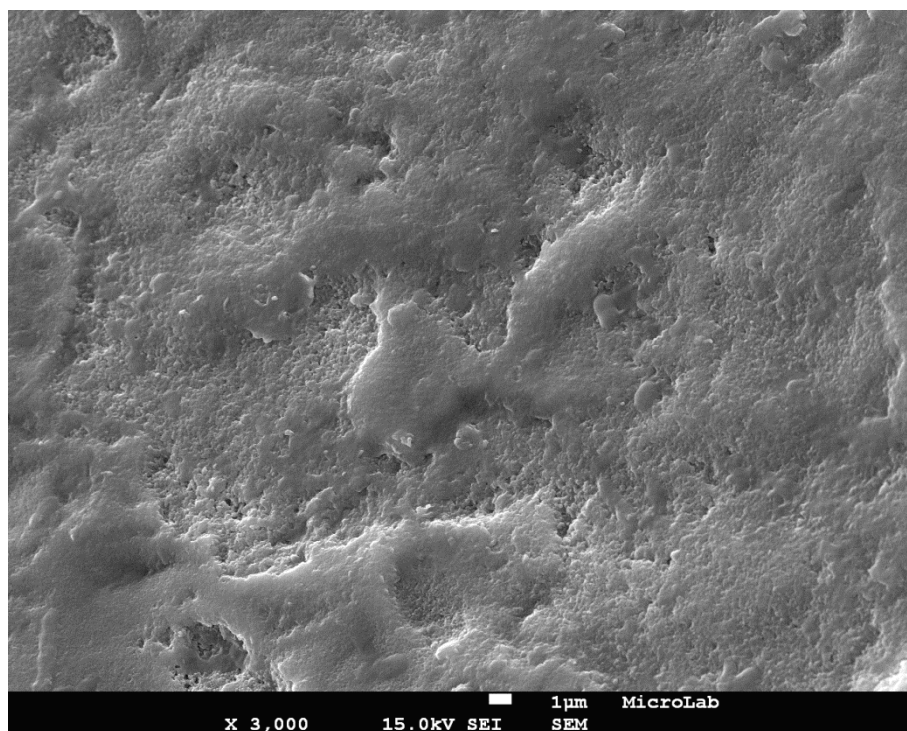


Figura 42 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x3.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor de alta concentração.

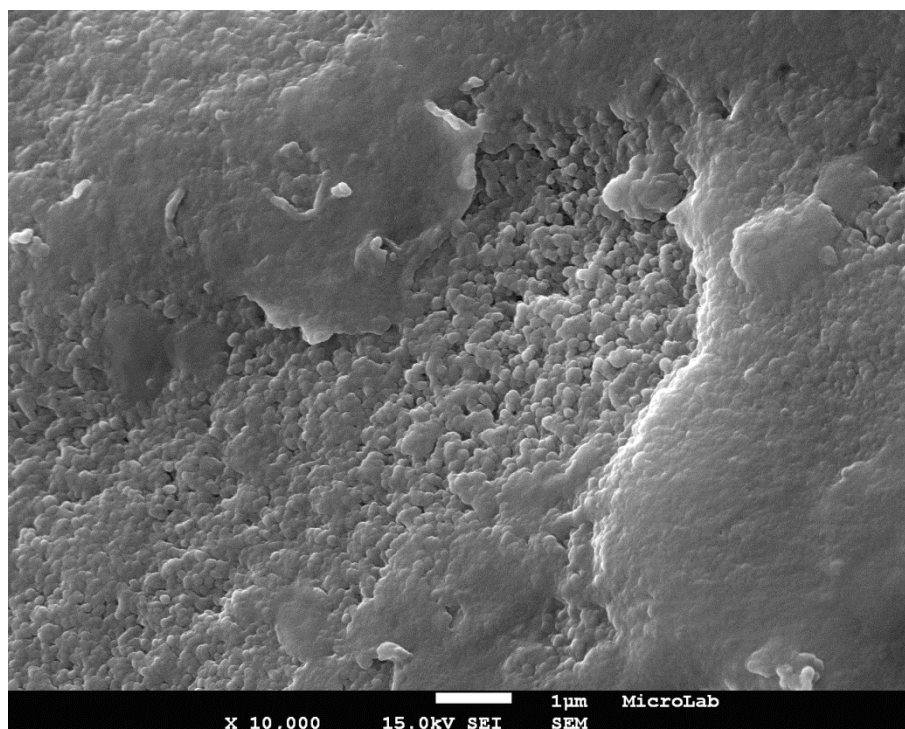


Figura 43 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x10.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor, sendo clara a manutenção da integridade da superfície.

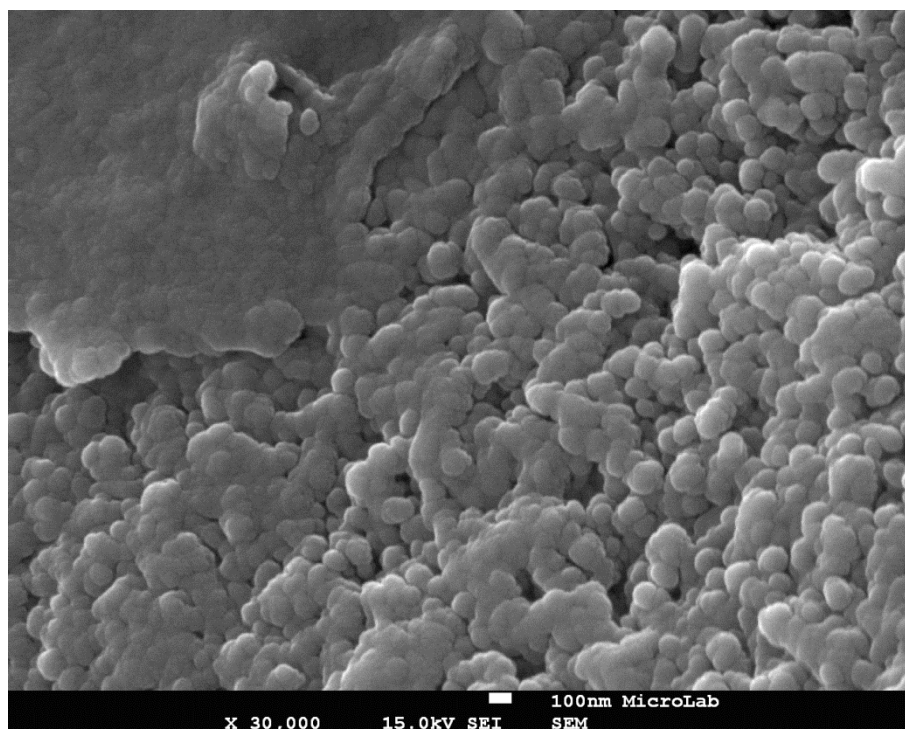


Figura 44 – Subgrupo D2 (controlo com flúor) (x30.000) – Fotomicrografia em pormenor do esmalte não erodido e submetido a verniz de flúor. É visível uma camada de fluoreto de cálcio (reservatório de flúor solúvel) de aparência globular.

E) Teste de Microdureza de Vickers

Em cada subgrupo, foi calculada a dureza média de superfície e o respetivo desvio padrão e erro padrão, cujos valores podem ser encontrados na tabela 11.

Subgrupo	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança da Média	
					Limite Inferior	Limite Superior
D1 (inicial)	50	379.74	19.832	2.805	374.10	385.38
D1 (final)	50	365.52	20.018	2.831	359.83	371.21
D2 (inicial)	50	411.54	11.049	1.563	408.40	414.68
D2 (final)	50	416.04	16.304	2.306	411.41	420.67
A1 (final)	50	267.04	12.267	1.735	263.55	270.53
A2 (final)	50	305.86	10.339	1.462	302.92	308.80
B1 (final)	50	235.40	16.664	2.357	230.66	240.14
B2 (final)	50	270.88	21.735	3.074	264.70	277.06
C1 (final)	50	364.74	8.656	1.224	362.28	367.20
C2 (final)	50	388.58	7.329	1.037	386.50	390.66
Total	500	340.53	63.765	2.852	334.93	346.14

Tabela 11 – Medidas descritivas dos diferentes subgrupos

A maior dureza de superfície foi encontrada nos subgrupos controlo D1 (sem flúor) e D2 (com verniz de flúor), seguida pelos subgrupos C2 (Vicks[®] com verniz de flúor), C1 (Vicks[®]), A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor), A1 (Ventilan[®]), B2 (Claritine[®] com verniz de flúor) e B1 (Claritine[®]), respetivamente.

Numa primeira análise é possível afirmar que houve um aumento significativo na dureza de superfície de todos os subgrupos submetidos a verniz de flúor, comparativamente aos subgrupos homólogos sem flúor. Além disto, o grupo B (Claritine[®]) manifestou uma redução de dureza estatisticamente superior aos outros grupos, seguida pelo grupo A (Ventilan[®]) e C (Vicks[®]), respetivamente.

Para ilustrar as diferenças entre os subgrupos, realizou-se um gráfico comparativo que se encontra a seguir (figura 45).

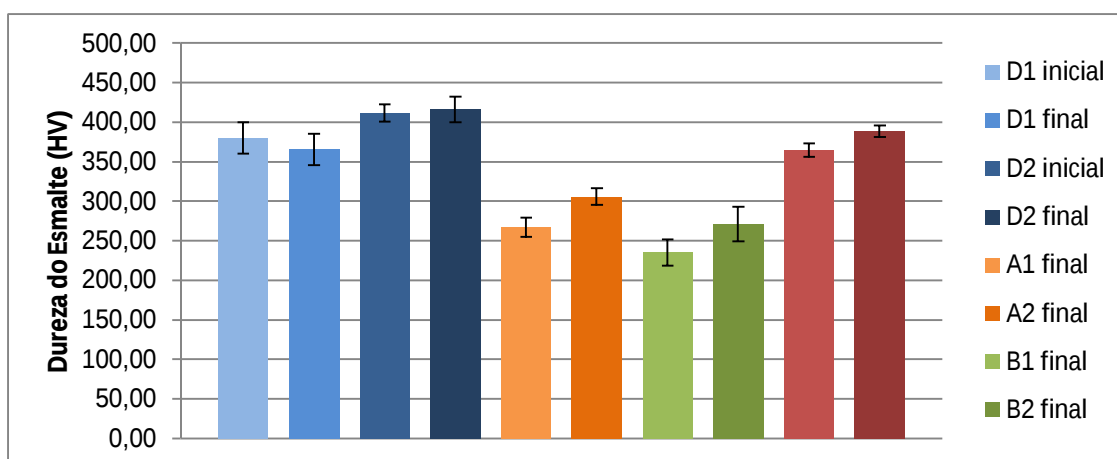


Figura 45 – Gráfico comparativo das medições de dureza do esmalte nos respectivos subgrupos

Os valores de dureza iniciais dos subgrupos controlo D1 e D2, que correspondem ao esmalte hígido, apresentaram uma dureza média de $379,74 \pm 19,83$ HV e $411,54 \pm 11,05$ HV, respetivamente. Após o final dos ciclos, houve uma diminuição significativa na dureza de superfície do subgrupo D1 ($p < 0,05$) e um aumento não significativo na dureza do subgrupo D2 ($p > 0,05$).

O subgrupo A1 (Ventilan[®]) exibiu uma dureza de superfície significativamente inferior ao subgrupo D1 (controlo sem flúor), com uma dureza média final de $267,04 \pm 12,27$ HV ($p < 0,05$). Já o subgrupo A2 (Ventilan[®] com verniz de flúor) manifestou uma dureza média final de $305,86 \pm 10,34$ HV, que é significativamente inferior à do subgrupo D2 (controlo com flúor) mas significativamente superior à do subgrupo A1 (Ventilan[®]) ($p < 0,05$).

O subgrupo B1 (Claritine[®]) apresentou a maior redução significativa na dureza quando comparado ao subgrupo D1 (controlo sem flúor), atingindo $235,40 \pm 16,66$ HV ($p < 0,05$). O subgrupo homólogo B2 (Claritine[®] com verniz de flúor) exibiu uma dureza média de $270,88 \pm 21,73$ HV, que também é significativamente inferior à do D2 (controlo com flúor) mas significativamente superior à do B1 (Claritine[®]) ($p < 0,05$).

Os subgrupos C1 (Vicks[®]) e C2 (Vicks[®] com verniz de flúor) manifestaram uma redução na dureza face aos subgrupos D1 (controlo sem flúor) e D2 (controlo com flúor), atingindo $364,74 \pm 8,66$ HV e $388,58 \pm 7,33$ HV, respetivamente. No entanto, esta não se demonstrou significativa ($p > 0,05$). Por último, a dureza do subgrupo C2 (Vicks[®] com flúor) foi significativamente superior à do C1 (Vicks[®]) ($p < 0,05$).

IV – DISCUSSÃO

A) Caracterização dos Fármacos

Existe uma tendência crescente no sentido da prescrição de medicamentos para o tratamento de condições crônicas, como a asma ou estados alérgicos, ou condições comuns recorrentes, como tosse, gripe e constipações (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Cavalcanti et al., 2012; Xavier et al., 2013, Nankar et al., 2014). Os xaropes, soluções ou suspensões são a forma farmacêutica de escolha em pacientes pediátricos, sendo também preferidos por alguns pacientes adultos (Xavier et al., 2013; Nankar et al., 2014). Estas formulações facilitam a sua administração e têm grande flexibilidade no ajuste das doses (Xavier et al., 2013). Apesar de o uso de preparações farmacêuticas líquidas ser normalmente de curta duração, alguns indivíduos necessitam de consumir estas formulações diariamente, por longos períodos de tempo (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Nankar et al., 2014).

Os medicamentos escolhidos para este estudo são dos xaropes mais prescritos para o tratamento de condições comuns como asma, alergias e tosse. Esta escolha é validada por investigações prévias (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Babu, Rai & Hedge, 2008b; Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Cavalcanti et al., 2012; Lussi, Xavier et al., 2013). A análise das informações disponibilizadas pelos fabricantes para realizar uma caracterização preliminar dos fármacos é uma prática realizada noutros estudos (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Cavalcanti et al., 2012; Lussi, Megert, Shellis & Wang, 2012). Nesta análise preliminar, concluiu-se que os fármacos em estudo têm algumas características em comum: a presença de componentes considerados potencialmente erosivos e a sua posologia.

Na perspetiva da Medicina Dentária, a formulação dos xaropes é controversa (Xavier et al., 2013). Por um lado, a presença dos ingredientes ativos na formulação dos xaropes é essencial para a melhoria ou manutenção do estado de saúde do indivíduo (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Xavier et al., 2013). Por outro lado, os ingredientes inativos (excipientes) podem tornar o medicamento potencialmente erosivo para as estruturas dentárias (Cavalcanti et al., 2012; Xavier et al., 2013). Uma vez que os xaropes açucarados são considerados um fator de risco para o aumento das lesões de cárie, estes têm vindo a ser reformulados no sentido de eliminar ou diminuir o seu conteúdo em açúcar (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Arora, Mukherjee & Arora, 2012). No entanto, muitas vezes, a

otimização deste processo requer a adição de ácidos fracos (como o ácido cítrico), que podem aumentar o risco de erosão dentária (Babu, Rai & Hedge, 2008a). Além disso, quanto maior for a concentração do ingrediente ativo no xarope, maior quantidade de excipientes acídicos são geralmente adicionados (Arora, Mukherjee & Arora, 2012)

A adição de ácidos às formulações dos medicamentos prende-se com a sua capacidade tampão, com a manutenção da estabilidade química, com o controlo da tonicidade do produto e da biocompatibilidade do ingrediente ativo (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Xavier et al., 2013; Nankar et al., 2014). Além disso, o pH ácido previne a contaminação dos xaropes por microrganismos (Xavier et al, 2013). Por outro lado, os excipientes disfarçam o sabor amargo dos ingredientes ativos, melhorando a palatabilidade do xarope (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Cavalcanti et al., 2012) e a cooperação do paciente face ao tratamento (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Cavalcanti et al., 2012).

De acordo com a literatura, o ácido cítrico é o principal excipiente acídico usado nas preparações farmacêuticas líquidas (Cavalcanti et al., 2012). Este é um potente agente erosivo devido à sua capacidade quelante do cálcio constituinte da hidroxiapatite, aumentando a taxa de dissolução do esmalte (Arora, Mukherjee & Arora, 2012; Cavalcanti et al., 2012; Xavier et al., 2013). O ácido cítrico remove os iões cálcio da superfície do esmalte, independentemente do pH do meio (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Babu, Rai & Hedge, 2008b).

Os três medicamentos analisados neste estudo apresentam ácido cítrico na sua composição, enquanto dois destes possuem ainda citrato, nomeadamente os xaropes Ventilan[®] e o Vicks[®]. Como referido, estes excipientes acídicos são indicados na literatura como uma das explicações para o potencial erosivo de medicamentos líquidos (Lussi, Megert, Shellis & Wang, 2012).

Além das suas formulações, é perceptível que os três medicamentos apresentam uma posologia semelhante. Para um indivíduo adulto, os fármacos Ventilan[®] e Claritine[®] apresentam uma dose aconselhada de 10 mL (equivalente a duas colheres de chá), enquanto que 15 mL (equivalente a 3 colheres de chá) é a quantidade recomendada do xarope Vicks[®]. Por outro lado, no medicamento Claritine[®] é apenas recomendada uma dose diária, mas nos outros dois fármacos a dose recomendada é múltipla, variando de 3-4 vezes por dia (Ventilan[®]) a 4-6x ao dia (Vicks[®]).

Para avaliar estes medicamentos, foi escolhida a dose de 10 mL numa frequência de 3 vezes ao dia. Esta opção é justificada por outros estudos previamente realizados acerca do potencial erosivo de medicamentos semelhantes (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Scatena, Galafssi, Gomes-Silva, Borsatto & Serra, 2014).

B) Comparação das Propriedades Químicas dos Fármacos

A quantidade de ácido disponível (acidez titulável) e a quantidade de ácido verdadeiramente presente (concentração de iões H^+ ou pH) são das propriedades químicas que mais contribuem para o potencial erosivo de um medicamento (Maguire, Baqir & Nunn, 2007; Barbour, Lussi & Shellis, 2011).

Para avaliar o pH e a acidez titulável, o uso de um elétrico de pH para medir o pH e a acidez titulável de medicamentos líquidos é uma prática descrita por vários autores (Maguire, Baqir & Nunn, 2007; Babu, Rai & Hedge, 2008a; Babu, Rai & Hedge, 2008b; Arora, Mukherjee & Arora, 2012; Cavalcanti et al., 2012; Xavier et al., 2013; Nankar et al., 2014). Além disso, a calibração prévia do instrumento com soluções tampão de pH conhecido é uma etapa essencial para garantir a acurácia dos resultados obtidos, tal como realizado noutros estudos (Cavalcanti et al., 2012; Nankar et al., 2014). Por outro lado, a titulação ácida foi feita com recurso a uma solução de NaOH a 0,1M em incrementos de 0,02 mL, um procedimento descrito por diversos autores (Costa, Almeida & Filho, 2006; Maguire, Baqir & Nunn, 2007; Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Arora, Mukherjee & Arora, 2012; Xavier et al., 2013). De forma semelhante, o uso de um agitador magnético aquando da determinação da acidez titulável dos fármacos em estudo é uma prática realizada por Xavier et al. (2013). Já a execução de duas medições distintas de pH e de acidez titulável, bem como o cálculo da sua média foi uma metodologia presente noutras investigações (Maguire, Baqir & Nunn, 2007; Arora, Mukherjee & Arora, 2012). Uma vez que o pH é significativamente influenciado pela temperatura, todas as medições foram realizadas sob uma temperatura ambiente controlada de 25°C, uma recomendação de vários autores (Shellis, Ganss, Ren, Zero & Lussi, 2011).

Dos medicamentos analisados, todos apresentaram um pH endógeno ácido, variando de 3,08 (Claritine[®]) a 5,15 (Vicks[®]). Estes valores estão de acordo com a literatura atual, na medida em que o pH das preparações farmacológicas líquidas varia entre 2,5 e 6,9 (Xavier et al., 2013). Além disso, o pH dos três medicamentos encontra-se abaixo de

5,5, considerado por muitos autores o pH crítico para a desmineralização do esmalte (Maguire, Baqir & Nunn, 2007; Arora, Mukherjee & Arora, 2012; Cavalcanti et al., 2012; Lussi, Megert, Shellis & Wang, 2012; Xavier et al., 2013).

Relativamente à acidez titulável, os valores variaram entre 25 mmol/L (Vicks[®]) e 85 mmol/L (Ventilan[®]). Pela análise dos resultados obtidos, o fármaco Vicks[®] apresenta a menor quantidade de ácido disponível, dado que foi o que necessitou de menos quantidade de NaOH para atingir o pH neutro, diminuindo o seu tempo de titulação (4,2 min). Por outro lado, o xarope Ventilan[®] possui a maior quantidade de ácido livre, uma vez que gastou maior volume de NaOH até à sua neutralização, aumentando o seu tempo de titulação (14,2 min). É interessante reparar que, apesar de o fármaco Claritine[®] ter sido identificado neste estudo e noutros (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2011) como o medicamento com piores resultados de pH, este não é o medicamento com maior acidez titulável (70 mmol/L) nem com maior tempo de titulação (11,7 min).

De acordo com os resultados obtidos, o fármaco Ventilan[®] apresenta um pH intermédio em comparação com os outros medicamentos estudados, mas detém o maior valor de acidez titulável. Já o xarope Claritine[®] exhibe o pH mais ácido, mas a sua acidez titulável não ultrapassa a encontrada no fármaco Ventilan[®]. Este resultado está de acordo com a informação reportada por outro estudo, que considerou o fármaco Claritine[®] como um dos medicamentos com piores resultados de pH e acidez titulável (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2011). Por último, o fármaco Vicks[®] possui o pH mais elevado, embora também ácido, e a menor acidez titulável dos três medicamentos.

Pela análise das suas propriedades químicas, é possível colocar à discussão que os fármacos Ventilan[®] e Claritine[®] apresentam maior potencial erosivo para o esmalte dentário, quando comparados com o xarope Vicks[®].

C) Análise da Superfície à Lupa Estereomicroscópica

As fotografias iniciais e finais de cada amostra permitiram a sua classificação de acordo com Índice da Erosão Dentária (Margaritis, Mamai-Homata, Koletsi-Kounari & Polychronopoulou, 2011). Apenas foram aplicadas as pontuações 0 (“ausência de desgaste erosivo”) ou 1 (“defeitos superficiais sem envolvimento dentinário”), uma vez que nenhum espécime apresentou sinais de exposição dentinária. Cada amostra foi classificada por dois observadores independentes, a duplo cego. Foi calculada a prevalência de concordância interobservador, que registou 93% de concordância.

Dentro de cada subgrupo, foi também calculada a moda, ou seja, a pontuação que ocorreu com maior frequência em cada conjunto de dados. Todos os subgrupos de estudo sem flúor (A1, B1 e C1) apresentaram uma moda de 1, quer na ponta da cúspide, quer no terço médio e junção amelocimentária. Isto significa que a prevalência de lesões erosivas nestes subgrupos foi superior a 50%. Por outro lado, todos os subgrupos de estudo com verniz de flúor (A2, B2 e C2) e os dois subgrupos de controlo (D1 e D2) registaram uma moda de 0, sendo esta a pontuação mais comum em ambas as localizações acima descritas. Logicamente, a prevalência de lesões erosivas nestes subgrupos foi inferior a 50%.

No entanto, foram registadas importantes diferenças na prevalência das lesões entre os subgrupos, de acordo com a sua localização, que são discutidas a seguir.

Dentro dos subgrupos de estudo sem flúor, o subgrupo A1 (Ventilan[®]) registou a maior prevalência de lesões erosivas, sendo que o terço médio e junção amelocimentária (100%) foram mais afetados que a ponta das cúspides ($\approx 86\%$). Seguiu-se o subgrupo C1 (Vicks[®]), com uma maior afetação da ponta das cúspides ($\approx 77\%$) em comparação com o terço médio e junção amelocimentária ($\approx 59\%$). O subgrupo B1 (Claritine[®]) foi o que apresentou menos lesões erosivas, sendo que o terço médio e junção amelocimentária ($\approx 68\%$) foram ligeiramente mais afetados que as cúspides ($\approx 63\%$).

Relativamente aos subgrupos de estudo que foram submetidos ao verniz de flúor, o subgrupo C2 (Vicks[®]) registou a maior prevalência de lesões erosivas, em ambas as localizações ($\approx 41\%$). Sucedeu-se o subgrupo A2 (Ventilan[®]) com uma prevalência ligeiramente superior no terço médio e junção amelocimentária ($\approx 32\%$) que na ponta das cúspides ($\approx 27\%$). A menor afetação destes subgrupos foi registada na ponta das

cúspides do subgrupo B2 (Claritine[®]) (5%), claramente inferior à do terço médio e junção amelocimentária (41%).

Quanto aos subgrupos de controlo D1 e D2, todas as amostras registaram uma prevalência de lesões erosivas de 0%, em ambas as localizações analisadas.

Com base na observação pela lupa estereromicroscópica, é de realçar que todos os fármacos em estudo são potencialmente erosivos para o esmalte dentário. De facto, não houve nenhum subgrupo de estudo que não revelasse pelo menos uma lesão erosiva. De acordo com a prevalência média das lesões erosivas, o fármaco Ventilan[®] apresentou o maior potencial erosivo (93%), seguido pelos fármacos Vicks[®] (68%) e Claritine[®] (66%). As pontas das cúspides foram mais afetadas, por ordem decrescente, nos fármacos Ventilan[®], Vicks[®] e Claritine[®]. A afetação do terço médio e da junção amelocimentária deu-se, por ordem decrescente, nos fármacos Ventilan[®], Claritine[®] e Vicks[®].

A aplicação de verniz de flúor reduziu fortemente o efeito erosivo dos fármacos e, consequentemente, a prevalência das lesões erosivas. A aplicação de flúor nos grupos A (Ventilan[®]) e B (Claritine[®]) reduziu a prevalência de lesões erosivas em aproximadamente 68% e 65%, respetivamente. A menor redução da prevalência ocorreu no grupo C (Vicks[®]), atingindo 40%.

D) Análise da Superfície ao Microscópio Eletrónico de Varrimento

A observação da superfície do esmalte através do microscópio eletrónico de varrimento (MEV) é um método frequentemente usado em várias investigações, não só para avaliar o efeito erosivo de medicamentos (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Babu, Rai & Hedge, 2008b; Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Passo & Santiago, 2014), mas também para estimar o potencial remineralizante da aplicação de flúor (Passo & Santiago, 2014). Tem grande utilidade para visualizar a topografia da superfície e as alterações micromorfológicas da desmineralização erosiva, não devendo ser usado sem outros métodos quantitativos (Babu, Rai & Hedge, 2008a; Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010). No entanto, este método é considerado dispendioso e destrutivo pela necessidade de cobrir as amostras com uma camada condutora (Passo & Santiago, 2014).

a) Potencial Erosivo dos Fármacos sobre o Esmalte

Para comparar o potencial erosivo dos distintos fármacos em estudo, comparou-se a topografia do esmalte não erodido do subgrupo D1 (controlo, sem flúor) com as particularidades dos restantes subgrupos A1, B1 e C1.

Nas imagens referentes ao subgrupo D1 (controlo, sem verniz de flúor) é notória a microrugosidade intrínseca do esmalte não erodido. A superfície tem um aspeto nebuloso, não havendo evidência de exposição dos cristais de esmalte.

Já nas imagens representativas do subgrupo A1 (Ventilan[®], sem verniz de flúor), o aspeto nebuloso não é detetado, sendo este substituído por uma superfície notoriamente mais rugosa e desorganizada. Numa observação em pormenor, assinala-se que a exposição parcial dos cristais de esmalte é frequente, enquanto a presença de crateras profundas e de microcracks é apenas ocasional. Também se detetam regiões de aspeto mais uniforme, correspondendo à conservação de matéria orgânica em redor dos cristais de esmalte.

Relativamente às imagens alusivas ao subgrupo B1 (Claritin[®], sem verniz de flúor), a superfície do esmalte também não é nebulosa mas sim desorganizada. No entanto, a quantidade de crateras profundas e a área de cristais exposta é francamente superior ao subgrupo A1. Também se detetam áreas de conservação de matéria orgânica interprismática. Por outro lado, só neste grupo é que foram encontradas zonas de desmineralização com um aspeto escamoso.

Comparativamente aos dois subgrupos anteriores, o subgrupo C1 (Vicks[®], sem verniz de flúor) é o que apresenta menor desmineralização erosiva. Apesar de também se encontrarem elevadas áreas de exposição de cristais, a sua integridade encontra-se mantida. Não foram encontradas crateras profundas nem microcracks.

Assim, quando comparados com o esmalte não erodido do grupo controlo, todos os outros subgrupos apresentam sinais de erosão. Pela análise das características da superfície, o subgrupo B1 (Claritin[®]) detém o maior potencial erosivo, seguido pelos subgrupos A1 (Ventilan[®]) e C1 (Vicks[®]), respetivamente.

b) Potencial Remineralizante do Verniz de Flúor

Para comparar o potencial remineralizante do verniz de flúor nas lesões causadas pelos distintos fármacos, optou-se por confrontar as características do subgrupo D2 (controlo com flúor) com os restantes subgrupos A2, B2 e C2.

As imagens referentes ao subgrupo D2 (controlo com flúor) correspondem ao esmalte não erodido e submetido ao verniz de flúor. Nestas é evidente a microrugosidade natural da superfície do esmalte. Na sua grande maioria, a superfície do esmalte encontra-se totalmente preservada, sendo identificável a camada de matéria orgânica que cobre os cristais. Também foi detetada uma camada de fosfato de cálcio, com uma aparência globular característica, que constitui um reservatório de flúor solúvel. Foram também identificadas algumas fraturas de tensão por desidratação do esmalte, aquando da preparação para o microscópio.

Nas imagens representativas do subgrupo A2 (Ventilan[®] e verniz de flúor) é evidente a remineralização generalizada da superfície, bem como a presença de microcracks e crateras ocasionais. Numa vista em pormenor, a maioria dos cristais encontra-se exposta e íntegra, mas noutras regiões os cristais estão fraturados. Nas paredes das crateras profundas, é notória a diferente orientação dos cristais entre si.

No subgrupo B2 (Claritine[®] e verniz de flúor) também é notória a remineralização generalizada da superfície. No entanto, este apresenta maior quantidade de lacunas não remineralizadas e uma maior dispersão na orientação de cristais adjacentes.

Igualmente aos anteriores, o subgrupo C2 (Vicks[®] e verniz de flúor) apresenta uma remineralização generalizada da superfície. No entanto, esta superfície é claramente mais organizada e a orientação dos cristais é muito semelhante entre si. Outro aspeto importante de distinção é que a bainha de matéria orgânica que rodeia cada prisma encontra-se intacta.

Desta forma, todos os subgrupos de estudo que foram submetidos ao verniz de flúor apresentam sinais de remineralização das lesões erosivas. No entanto, o grau de organização desta remineralização é distinto entre os subgrupos, sendo que o subgrupo C2 (Vicks[®]) aparenta ser detentor do maior potencial de remineralização, seguido pelos subgrupos A2 (Ventilan[®]) e B2 (Claritine[®]), respetivamente.

E) Teste de Microdureza de Vickers

A avaliação da dureza da superfície do esmalte através do teste de microdureza de Vickers é um método empregue em diversos estudos, uma vez que é altamente sensível nos estados iniciais da erosão (Stenhagen, Hove, Holme, Taxt-Lamolle & Trevit, 2010; Lussi, Megert, Shellis & Wang, 2012; Passos & Santiago, 2014). O polimento da camada mais externa do esmalte, para produzir uma superfície lisa e perpendicular ao longo eixo do indentador, é uma etapa essencial para uma determinação fiável da dureza segundo vários autores (Stenhagen, Hove, Holme, Taxt-Lamolle & Trevit, 2010; Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Schlueter, Hara, Shellis & Ganss, 2011; Lussi, Megert, Shellis & Wang, 2012). De acordo com outras investigações (Valinoti, Pierro, Silva & Maia, 2010; Passos, Melo, Vasconcellos, Rodrigues & Santiago, 2013), a realização de 5 indentações por amostra é necessária para validar os resultados. Já o uso de cargas pequenas na análise da dureza do esmalte é apoiada por várias investigações (Shellis, Ganss, Ren, Zero & Lussi, 2011; Schlueter, Hara, Shellis & Ganss, 2011).

O teste ANOVA a um fator permitiu afirmar que, com uma probabilidade de erro de 5%, existiam pelo menos dois subgrupos com médias de dureza significativamente diferentes ($p\text{-value} = 0,000 < \alpha = 0,05$). Isto levou à rejeição da hipótese nula em favor da hipótese alternativa. Por outro lado, o teste de comparações múltiplas de Bonferroni ilustrou quais as médias significativamente diferentes.

Os valores de dureza iniciais dos subgrupos controlo D1 e D2, que correspondem ao esmalte hígido, apresentaram uma dureza média de $379,74 \pm 19,83$ HV ($1202,51 \pm 62,80$ MPa) e $411,54 \pm 11,05$ HV ($1303,21 \pm 34,99$ MPa), respetivamente. Estes valores estão de acordo com outros estudos publicados sobre a dureza do esmalte são (Khamverdi, Vahedi, Abdollahzadeh & Ghambari, 2013; Drummond & Kilpatrick, 2015). No entanto, os valores iniciais de dureza destes subgrupos são estatisticamente distintos ($p < 0,05$). Dado que as amostras foram aleatoriamente alocadas nos subgrupos, é provável que estas diferenças se devam à variabilidade natural do esmalte.

Após o final dos ciclos, o subgrupo D1 exibiu uma diminuição significativa na dureza superficial ($p < 0,05$), atingindo um valor médio de $365,92 \pm 20,02$ HV ($1158,75 \pm 63,40$ MPa). Isto pode dever-se à variação de pH da água destilada usada. Idealmente a água destilada apresenta um pH neutro mas, na prática, o seu pH é ligeiramente ácido. A água destilada usada neste estudo tem um pH de 6,5 que, apesar de estar acima do valor

crítico para a dissolução do esmalte, pode ter contribuído para a diminuição da sua dureza.

Em alternativa, a adição de verniz de flúor no subgrupo D2 revelou um ligeiro aumento na dureza com uma média de $416,04 \pm 16,30$ HV ($1317,46 \pm 51,62$ MPa), embora esta alteração não tenha sido significativa ($p > 0,05$). Uma vez que este subgrupo não foi exposto a soluções potencialmente erosivas, a presença de flúor no ambiente pode ter tido um efeito preventivo contra possíveis alterações no esmalte.

Os dados são consistentes acerca do efeito erosivo dos distintos fármacos na dureza do esmalte. A maioria dos subgrupos de estudo sem flúor apresentou uma redução significativa na dureza quando comparados aos valores do esmalte hígido sem flúor (subgrupo D1) ($p < 0,05$), com exceção do subgrupo C1 (Vicks[®]). A maior redução na dureza foi reportada no subgrupo B1 (Claritine[®]), que manifestou um valor médio de $235,40 \pm 16,66$ HV ($745,43 \pm 52,76$ MPa). Seguiu-se o subgrupo A1 (Ventilan[®]), que demonstrou uma dureza média ligeiramente mais elevada que a do subgrupo anterior, nomeadamente $267,04 \pm 12,27$ HV ($845,63 \pm 38,86$ MPa). Finalmente, o subgrupo C1 foi o subgrupo de estudo que manifestou a menor redução na dureza, com uma média de $364,74 \pm 8,66$ HV ($1162 \pm 28,73$). No entanto, esta última não se demonstrou significativa ($p > 0,05$). Pelos resultados acima expostos, depreende-se que a maior quantidade de erosão ocorreu no subgrupo B1 (Claritine[®]), seguido pelos subgrupos A1 (Ventilan[®]) e C1 (Vicks[®]), respetivamente.

Existiu também consistência na comparação dos subgrupos que foram submetidos a verniz de flúor. Todos os subgrupos de estudo com flúor apresentaram valores de dureza finais significativamente superiores aos subgrupos homólogos sem flúor. Dentro dos subgrupos com flúor, o subgrupo B2 (Claritine[®]) deteve a menor dureza relativa com uma média de $270,88 \pm 21,73$ HV ($857,79 \pm 68,81$ MPa), seguido pelos subgrupos A2 (Ventilan[®]) com $305,86 \pm 10,34$ HV ($968,56 \pm 32,74$ MPa) e C2 (Vicks[®]) com $388,58 \pm 7,33$ HV ($1230,50 \pm 23,21$ MPa), respetivamente. Também foi interessante verificar que a dureza média do subgrupo C2 (Vicks[®] com verniz de flúor) não apresentou uma diferença significativa face ao subgrupo D1 final (controlo sem flúor) ($p = 0,174$).

É importante relembrar que a posologia diária indicada para o Claritine[®] (grupo B) é inferior ao volume usado nas imersões. Provavelmente, esta sobre-exposição pode ter potenciado a redução de dureza neste grupo, sobrestimando o seu real potencial erosivo.

F) Limitações do Estudo

A erosão é uma condição multifatorial, pelo que o seu desenvolvimento depende da interação entre vários fatores de risco e de proteção. Desta forma, este estudo *in vitro* é incapaz de reproduzir na totalidade as condições fisiológicas. Os resultados obtidos devem ser apenas interpretados no sentido da predição do relativo potencial erosivo dos medicamentos estudados.

Relativamente à predição do potencial erosivo, poderiam ter sido avaliados mais parâmetros químicos como a capacidade tampão, a viscosidade, a concentração de cálcio, fosfato e flúor e o grau de saturação em relação à hidroxiapatite e fluorapatite.

A saliva artificial é uma alternativa conveniente para simular o papel da saliva no meio oral, dado que a sua composição iónica é potencialmente remineralizante. No entanto, esta solução não possui nem a capacidade tampão nem a capacidade de diluição de agentes erosivos da saliva humana. Outras características ausentes incluem as proteínas protetoras e a formação da película adquirida de esmalte, que impede o contacto direto dos ácidos com a superfície.

Outra limitação deste estudo é a remoção da camada mais externa de esmalte pelo polimento da superfície, uma etapa necessária para a medição da dureza, que pode ter contribuído para sobrestimar a severidade da erosão.

Por fim, o tamanho da amostra poderia ser maior. Logicamente, quanto maior o número espécimes, maior validade terão os resultados e conclusões obtidas.

G) Perspetivas Futuras

Num futuro estudo seria interessante quantificar as concentrações cálcio, fosfato e flúor presentes nestes fármacos, que influenciam grandemente o seu grau de saturação em relação à hidroxiapatite e fluorapatite. Outras análises relevantes seriam a determinação da capacidade tampão e da viscosidade de cada fármaco, uma vez que as soluções mais viscosas estão associadas a uma menor erosão do esmalte.

Dado que a película adquirida é um fator de crucial importância na proteção do esmalte, os espécimes poderiam ter sido idealmente imersos em saliva humana, previamente ao desafio erosivo. Isto promoveria a formação da película adquirida para mimetizar a realidade clínica.

V – CONCLUSÕES

- Relativamente à caracterização preliminar através das informações disponibilizadas pelos fabricantes, os fármacos pertencem a categorias farmacológicas diferentes. Tanto o Ventilan[®] (xarope de sulfato de salbutamol a 0,4 mg/mL) como o Vicks[®] (xarope de guaifenesina a 13,33 mg/ml) possuem ácido cítrico e citrato como excipientes potencialmente erosivos. O Claritine[®] (xarope de loratadina a 1 mg/ml) tem apenas o ácido cítrico como componente relevante para o processo erosivo. A posologia diária indicada para cada fármaco também difere, sendo que o Claritine[®] apresenta a menor dose recomendada dos três medicamentos.
- Quanto às propriedades químicas, o fármaco Claritine[®] exibiu o pH mais ácido (3,08) e a segunda maior acidez titulável. O Ventilan[®] apresentou um pH ácido intermédio, mas a maior acidez titulável (85 mmol/L). O Vicks[®] apresentou o pH mais elevado, embora também ácido, e a menor acidez titulável dos três fármacos.
- Relativamente à predição do potencial erosivo com a lupa estereomicroscópica, o fármaco Ventilan[®] originou a maior prevalência de lesões erosivas, seguido pelo Vicks[®] e Claritine[®], respetivamente. Na observação ao MEV e na análise de microdureza de Vickers, a maior desmineralização erosiva foi produzida pelo medicamento Claritine[®], seguindo-se o Ventilan[®] e o Vicks[®], respetivamente. Considerando uma dose padronizada, conclui-se que o fármaco Claritine[®] detém o maior potencial erosivo, seguido pelos fármacos Ventilan[®] e Vicks[®], respetivamente.
- A aplicação de verniz de flúor a alta concentração preveniu, até certo ponto, uma diminuição na dureza do esmalte em todos os grupos. Esta adição reduziu a prevalência de lesões erosivas em 68% (Claritine[®]), 65% (Ventilan[®]) e 40% (Vicks[®]). As lesões provocadas pelo Vicks[®] aparentam ter o maior potencial de remineralização, seguidas pelas do Ventilan[®] e Claritine[®], respetivamente.

VI - BIBLIOGRAFIA

- Anusavice, K.J., Shen, C. & Rawls, H.R. (2013). *Phillips' Science of Dental Materials*. Elsevier Saunders, Missouri. 12ª Edição. ISBN: 978-1-4377-2418-9
- Arora, R., Mukherjee, U. & Arora, V. (2012). Erosive potential of sugar free and sugar containing pediatric medicines given regularly and long term to children. *Indian Journal of Pediatrics*, 79(6): 789-763. doi: 10.1007/s12098-011-0543-5
- Aykut-Yetkiner, A., Wiegand, A., Bollhalder, A., Becker, K. & Attin, T. (2013). Effect of acidic solution viscosity on enamel erosion. *Journal of Dental Research*, 92(3): 289-294. doi: 10.1177/0022034512473115
- Babu, K.L., Rai, K. & Hedge, A.M. (2008a). Pediatric liquid medicaments – do they erode the teeth surface? An *in vitro* study: part I. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 32(3): 189-194. doi:10.5005/jp-journals-10024-1481
- Babu, K.L., Rai, K. & Hedge, A.M. (2008b). pH of medicated syrups – Does it really matter? - An *in vitro* study: part II. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 33(2): 51-56
- Barbour M.E., Lussi A. & Shellis R.P. (2011). Screening and prediction of erosive potential. *Caries Research*, 45 (Suppl 1): 24-32. doi: 10.1159/000325917
- Barbour. M.E. & Lussi, A. (2014). Erosion in relation to nutrition and environment. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 143-154. doi: 10.1159/000359941
- Berkovitz, B.K.B., Holland, G.R. & Moxham, B.J. (2009). *Oral Anatomy, Histology and Embryology*. Mosby Elsevier. 4ª Edição. ISBN: 9780723435518
- Beyer, M., Reichert, J., Heurich, E., Jandt, K.D. & Sigusch, B.W. (2010). Pectin, alginate and gum arabic polymers reduce citric acid erosion effects on human enamel. *Dental Materials*, 26(9): 831-839. doi: 10.1016/j.dental.2010.04.008
- Bhushan, J., Joshi, R., Sidhu, K. & Singh, A. (2011). Tooth wear – an overview with special emphasis on dental erosion. *Indian Journal of Dental Sciences*, 3(5). doi: 10.1159/000325915.
- Buzalaf, M.A.R., Hannas, A.R. & Kato, M.T. (2011). Saliva and dental erosion. *Journal of Applied Oral Science*, 20: 493-502. doi:10.1590/S1678-77572012000500001
- Buzalaf, M.A.R., Magalhães, A.C. & Wiegard, A. (2014). Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 244-252. doi: 10.1159/000360557

- Cavalcanti, A.L., Sousa, R.I.M., Clementino, M.A., Vieira, F.F., Cavalcanti, C.L. & Xavier, A.F.C. (2012). *In vitro* analysis of the cariogenic and erosive potential of paediatric antitussive liquid oral medications. *Tanzania Journal of Health Research*, 14(2). doi: 10.4314/thrb.v14i2.7
- Cheaib, Z. & Lussi, A. (2011). Impact of acquired enamel pellicle modification on initial dental erosion. *Caries Research*, 45: 107-112. doi: 10.1159/000324803
- Czichos, H., Saito, T. & Smith, L.E. (2011). *Handbook of metrology and testing*. Springer, New York. 1ª Edição. ISBN: 978-3-642-16640-2
- Dixon, B., Sharif, M.O., Ahmed, F., Smith, A.B., Seymour, D., Brunton, P.A. (2012). Evaluation of the basic erosive wear examination (BEWE) for use in general dental practice. *British Dental Journal*, 213: E4. doi: 10.1038/sj.bdj.2012.670
- Drummond, B.K., Kilpatrick, N. (2015). *Planning and care for children and adolescents with dental enamel defects – Etiology, research and contemporary management*. Springer, New York, 16ª edição. ISBN 978-3-662-44800-7
- El Aidi, H., Bronkhorst, E.M., Huysmans, M.C. & Truin G.J. (2010). Dynamics of tooth erosion in adolescents: a 3-year longitudinal study. *Journal of Dentistry*, 38: 131–137. doi: 10.1016/j.jdent.2009.09.012
- Fejerskov, O. Nyvad, B. & Kidd, E. (2015). *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management*. Wiley-Blackwell. 3ª Edição. ISBN: 978-1-118-93582-8
- Ganss, C. & Lussi, A. (2014). Diagnosis of erosive tooth wear. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 22-31. doi: 10.1159/00035993
- Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, N. (2012). Dental erosion as oral disease. Insights in etiological factors and pathomechanisms, and current strategies for prevention and therapy. *American Journal of Dentistry*, 25: 351-364. doi: 10.1371/journal.pone.0111123
- Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, N. (2014). The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 99-107. doi: 10.1159/000359939
- Hannig, M. & Hannig, C. (2014). The pellicle and erosion. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 206-214. doi: 10.1159/000360376
- Hara, A.T. & Zero, D.T. (2014). The potential of saliva in protecting against dental erosion. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 197-205. doi: 10.1159/000360372

- Hellwig E. & Lussi, A. (2014). Oral hygiene products, medications and drugs - hidden aetiological factors for dental erosion. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 155-62. doi: 10.1159/000359942
- Herrmann, K. (2011). *Hardness testing: principles and applications*. Materials Park, OH: ASM International. 1ª Edição. ISBN: 978-1-61503-832-9
- Huysmans, M.C., Young, A. & Ganss, C. (2014). The role of fluoride in erosion therapy. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 230-243. doi: 10.1159/000360555
- Infarmed – bula do medicamento Claritine® (loratadina a 1 mg/ml, xarope), Merck Sharp & Dohme, aprovado em 28/8/2014.
- Infarmed – bula do medicamento Ventilan® (sulfato de salbutamol a 0,4 mg/ml, xarope), Glaxo Smith Kline, aprovado em 13/10/2014.
- Infarmed – bula do medicamento Vicks® (guaifenesina a 13,33 mg/ml, xarope), Laboratórios Vicks, S.L., aprovado em 14/9/2011.
- Jaeggi, T. & Lussi, A. (2014). Prevalence, incidence and distribution of erosion. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 55-73. doi: 10.1159/000360973
- Johansson, A.-K., Omar, R., Carlsson, G.E. & Johansson, A. (2012). Dental erosion and its growing importance in clinical practice: from past to present. *International Journal of Dentistry*. doi:10.1155/2012/63290
- Khamverdi, Z., Vahedi, M., Abdollahzadeh, S. & Ghambari, M.H. (2013). Effect of a common diet and regular beverage on enamel erosion in various temperatures: an in-vitro study. *Journal of Dentistry*, 10: 411-6. doi:10.1016/0003-9969(77)900723
- Laurance-Young, P., Bozec, L., Gracia, L., Rees, G., Lippert, F., Lynch, R.J.M. & Knowles, J.C. (2011). A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralisation. *Journal of Dentistry*, 39: 166-172. doi: 10.1016/j.dent.2011.01.008
- Lussi, A. & Carvalho, T.S. (2014). Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 1-15. doi: 10.1159/000360380
- Lussi, A. & Hellwig, B. (2014). Risk assessment and causal preventive measures. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 220-229. doi: 10.1159/000359943

- Lussi, A., Megert, B., Shellis, R.P. & Wang, X. (2012). Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *British Journal of Nutrition*, 107: 252-262. doi: 10.1017/S0007114511002820
- Lussi, A., Schlueter, N., Rakhmatullina, E. & Ganss, C. (2011). Dental erosion - An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Research*, 45 (Suppl 1): 2-12. doi: 10.1159/000325915
- Magalhães, A.C., Wiegand, A., Rios, D., Buzalaf, M.A.R. & Lussi, A. (2011). Fluoride in dental erosion. In *Fluoride and the Oral Environment – Monographs in Oral Science*, Karger, 22: 158-170. doi: 10.1159/000325167
- Margaritis, V., Mamai-Homata, E., Koletsi-Kounari, H. & Polychronopoulou, A. (2011). Evaluation of three different scoring systems for dental erosion: a comparative study in adolescents. *Journal of Dentistry*, 39: 88-93. doi: 10.1016/j.jdent.2010.10.014
- Murray, R., Rodwell, V., Bender, D., Botham, K.M., Weil, P.A. & Kennelly, P.J. (2012). *Harper's Illustrated Biochemistry*. McGraw Hill-Lange. 29ª Edição. ISBN: 978-0071765763
- Nankar, M., Walimbe, H., Bijle, M.N., Kontham, U., Kamath, A. & Muchandi, S. (2014). Comparative evaluation of cariogenic and erosive potential of commonly prescribed pediatric liquid medicaments: an *in vitro* study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 15(1):00-00. doi: 10.5005/jp-journals-10024-0000
- Nelson, D.L. & Cox, M.M. (2012). *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman and Company, New York. 6ª Edição. ISBN: 978-1429234146.
- Nelson, S.J. (2014). *Wheeler's Dental Anatomy, Physiology & Occlusion*. Elsevier Health Sciences, Missouri. 10ª Edição. ISBN: 978-0-323-26323-8
- Omokanwaye, T., Wilson, O., Gugssa, A. & Anderson, W. (2015). Biomineralization of Nanoscale Single Crystal Hydroxyapatite. *Materials Science & Engineering C*. doi: 10.1016/j.msec.2015.05.073
- Pawankar, R., Canonica, G.W., Holgate, S.T. & Lockey, R.F. (2011). *WAO White Book on Allergy 2011-2012: Executive Summary*. World Allergy Organization. Disponível em: http://www.worldallergy.org/publications/wao_white_book.pdf
- Passos, V.F. & Santiago, S.L. (2014). Methodologies to analyse the micromorphological alterations of enamel subjected to abrasion/erosion. *Dentistry*, 4: 9. doi: 10.4172/2161-1122.1000255

- Passos, V.F., Melo, M.A.S., Vasconcellos, A.A., Rodrigues, L.K.A. & Santiago, S.L. (2013). Comparison of methods for quantifying dental wear caused by erosion and abrasion. *Microscopy Research and Technique*, 76: 178-183. doi: 10.1002/jemt.22150
- Pelleg, J. (2013). *Mechanical Properties of Materials*. Springer, New York. 1ª Edição. ISBN: 978-94-007-4341-0
- Pierro, V.S., Maia, L.C., Vieira, T.I., Candreva, M.S., Villardi, M. & Cabral, L.M. (2013). Effect of dilution on the pH and titrable acidity of pediatric syrup medicines. *Open Access Scientific Reports*, 2: 595. doi:10.4172/scientificreports.595
- Sala, E.C. & García, P.B. (2013). *Odontología Preventiva y Comunitaria – Principios, métodos y aplicaciones*. Elsevier. 4ª Edição. ISBN: 978-84-458-2203-6
- Salas, M.M.S., Nascimento, G.G., Huysmans, M.C. & Demarco, F.F. (2014). Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: An epidemiological systematic review and meta-regression analysis. *Journal of Dentistry*. doi: 10.1016/j.jdent.2014.10.012
- Satish, C., Shaleen, C., Mithilesh, C., Girish, C. & Nidhee, C. (2010). *Textbook of Dental and Oral Histology with Embryology*. Jaypee Brothers Publishers, 2ª ed. ISBN: 9788184487121
- Scatena, C., Galafssi, D., Gomes-Silva, J.M., Borsatto, M.C. & Serra, M.C. (2014). In vitro erosive effect of pediatric medicines on deciduous tooth enamel. *Brazilian Dental Journal*, 25(1): 22-27. doi: 10.1590/0103-6440201302344
- Schlueter, N., Hara, A., Shellis, R.P. & Ganss, C. (2011). Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Research*, 45: 13-23. doi: 10.1159/000326819
- Schlueter, N., Jaeggi, T. & Lussi, A. (2012). Is dental erosion really a problem? *Advanced Dental Research*, 24(2): 68-71. doi: 10.1177/0022034512449836
- Shellis, R.P., Featherstone, J.D. & Lussi, A. (2014). Understanding the chemistry of dental erosion. In *Erosive Tooth Wear – Monographs in Oral Science*, Karger, 25: 163-179. doi: 10.1159/000359943
- Shellis, R.P., Ganss, C., Ren, Y., Zero, D.T. & Lussi, A. (2014). Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Research*, 45: 69-77. doi: 10.1159/000325971

- Siqueira, W.L., Custodio, W. & McDonald, E.E. (2012). New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *Journal of Dental Research*, 91: 1110-1118. doi: 10.1177/0022034512462578
- Siqueira, W.L., Margolis, H.C., Helmerhorst, E.J., Mendes, F.M. & Oppenheim, F.G. (2010). Evidence of intact histatins in the in vivo acquired enamel pellicle. *Journal of Dental Research*, 89: 626-30. doi: 10.1177/0022034510363384
- Stenhagen, K.R., Hove, L.H., Holme, B., Taxt-Lamolle, S. & Tveit, A.B. (2010). Comparing different methods to assess erosive lesion depths and progression in vitro. *Caries Research*, 44: 555-561. doi: 10.1159/00321536
- Taji, S. & Seow, W.K. (2010). A literature review of dental erosion in children. *Australian Dental Journal*, 55: 358-367. doi: 10.1111/j.1834-7819.2010.01255.x
- Thomas, M.S., Parolia, A., Kundabala, M. & Vikram, M. (2010). Asthma and oral health: a review. *Australian Dental Journal*, 55: 128-133. doi: 10.1111/j.1834-7819.2010.01226.x
- Valinoti, A.C., Pierro, V.S., Silva, E.M. & Maia, L.C. (2011). In vitro alterations in dental enamel exposed to acidic medicines. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 21: 141-150. doi: 10.1111/j.1365-263X.2010.01104.x
- Vukosavljevic, D., Custodio, W., Buzalaf, M.A., Hara, A.T. & Siqueira, W.L. (2014). Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Archives of Oral Biology*, 59: 631-638. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.02.002
- Wang, X. & Lussi, A. (2010). Assessment and management of dental erosion. *Dental Clinics of North America*, 54(3): 565-578. doi: 10.1016/j.cden.2010.03.003
- Wang, X. & Lussi, A. (2012). Functional foods/ingredients on dental erosion. *European Journal of Nutrition*, 51 (Suppl 2): S39-S48. doi: 10.1007/s00394-012-0326-4
- World Health Organization (2014). Fact sheet on Influenza. *WHO Press*, Fact sheet n° 211. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>
- West, N.X. & Joiner, A. (2014). Enamel mineral loss. *Journal of Dentistry*, 42: S2-11. doi 10.1016/S0300-5712(14)50002-4
- Xavier, A.F., Moura, E.F., Azevedo, W.F., Vieira, F.F., Abreu, M.H. & Cavalcanti, A.L. (2013). Erosive and cariogenicity potential of pediatric drugs: study of physicochemical parameters. *BMC Oral Health*, 13:71. doi:10.1186/1472-6831-13-71