

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

PAULO FELIPE DOS SANTOS RIBEIRO

**EFEITO DO GEL DE FLÚOR NA PRESERVAÇÃO DA
MATRIZ DE COLÁGENO DENTINÁRIA EM
CONDIÇÃO EROSIVA**

BAURU

2016

PAULO FELIPE DOS SANTOS RIBEIRO

**EFEITO DO GEL DE FLÚOR NA PRESERVAÇÃO DA
MATRIZ DE COLÁGENO DENTINÁRIA EM
CONDIÇÃO EROSIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências da
Saúde como parte dos requisitos para
obtenção do título de bacharel em
Odontologia, sob orientação da Profa. Dra.
Melissa Thiemi Kato.

BAURU

2016

Santos, Paulo Felipe dos

S2373e

Efeito do gel de flúor na preservação da matriz de colágeno dentinária em condição erosiva / Paulo Felipe dos Santos. -- 2016.

25f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru – SP

1. Erosão dentária. 2. Dentina. 3. Flúor. I. Kato, Melissa Thiemi. II. Título.

PAULO FELIPE DOS SANTOS RIBEIRO

EFEITO DO GEL DE FLÚOR NA PRESERVAÇÃO DA MATRIZ DE COLÁGENO DENTINÁRIA EM CONDIÇÃO EROSIVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia Sob orientação da Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato.

Banca Examinadora:

Dra. Melissa Thiemi Kato
Universidade do Sagrado Coração

Dra. Polliana Mendes Candia Scaffa
Faculdade de Odontologia de Bauru FOB/USP

Dra. Karin Cristina da Silva Modena
Universidade Sagrado Coração

Bauru, 28 de Outubro de 2016

Dedico esse trabalho aos meus pais
Renata Macedo dos Santos e Paulo César Ribeiro
que foram fundamentais para meu desenvolvimento
e a minha orientadora Prof^a Dr^a Melissa Thiemi Kato.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por ser meu porto seguro pra tudo na vida, e me proporcionar saúde para desfrutar de todos os seus projetos em minha vida, pois sem Ele, eu não teria forças para essa longa jornada.

Agradeço aos meus pais Renata Macedo dos Santos e Paulo César Ribeiro por toda dedicação e amor, e apesar de todas as dificuldades, não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida, que para mim foi muito importante, embora não tivessem conhecimento disto, mas iluminaram de maneira especial os meus pensamentos, levando-me a buscar mais conhecimentos.

Agradeço a Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato pela dedicação à elaboração deste trabalho, pela oportunidade e apoio, por todo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos, pela paciência e carinho, a qual sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada.

Agradeço aos meus familiares, em especial minha tia Priscila Macedo dos Santos que, com muito carinho e apoio, não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida sempre proporcionou tudo o que eu precisei.

Agradeço aos Professores Dr. Leonardo Marques, Dra. Pamela Letícia dos Santos, Dra. Jéssica Lemos Gullinelli, Dr. Joel Ferreira Santiago Junior e Dr. Izabel Maria Marchi de Carvalho por todo incentivo, por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra “mestre”, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

Agradeço a Dra. Ticiano Aparecida Alves de Mira, por ter sido um anjo na minha vida, me ajudar a ingressar a vida acadêmica, por toda atenção e esforço dedicado a isso.

Agradeço às Professoras Andrea Maria Biondo, Luciane Maria Fernandes Pereira e todos os professores, por ser meu incentivo base para criar asas à graduação.

Agradeço as companheiras de pesquisa Ana Gabriela Siva Iscuissati e Lucianna Gabriella Borges Bernardo pelo companheirismo de trabalhos e amizade e por fazerem parte dessa etapa, que com certeza, irão continuar presentes em minha vida.

Agradeço aos amigos, em especial Bianca Regina dos Santos, Daiane Oliveira Santos e Wilson Ramos de Lima Jr., que nos momentos de minha ausência dedicada ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

Agradeço aos funcionários da Universidade do Sagrado Coração, em especial, Célia Regina Lopes, Jéssica Tatiani da Silva e Josiane Pereira Lima por toda ajuda durante minha graduação.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram por essa fase da minha vida.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Universidade do Sagrado Coração USC, representada pela digníssima reitora Profa. Irmã Susana de Jesus Fadel.

À Pró-Reitoria de Pesquisa, representada pela digníssima Pró-Reitora Sandra de Oliveira Saes.

A Pró-Reitoria de pesquisa por possibilitar acesso ao laboratório de biologia molecular da Universidade do Sagrado Coração, USC como sede para parte de desenvolvimento da pesquisa.

À Profa. Dra. Marília Buzalaf por ceder o laboratório de bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, FOB-USP como sede para parte de desenvolvimento da pesquisa.

Ao Fundo de Amparo pertencente à Universidade Sagrado Coração, pelo fomento à pesquisa.

“Prevenção ganha um importante papel no objetivo de minimizar a ocorrência de desconfortos, por meio de medidas mais simples, baratas e que resultam em menor incômodo ao paciente.” (KATO, 2015).

RESUMO

O flúor exerce efeito inibitório sobre a metaloproteinases da matriz (MMPs) presentes na dentina e também na saliva. As MMPs são enzimas responsáveis pela degradação dos componentes ricos em colágeno, possuindo assim, um potencial protetor contra desafios erosivos, pela preservação da camada de colágeno. O objetivo deste estudo foi testar seu efeito na prevenção da matriz orgânica desmineralizada da dentina num estudo *in vitro*. Blocos de dentina bovina (4X4X2mm) foram randomizados e divididos em 3 grupos (n=13/grupo) de tratamento preventivo, utilizando-se gel de aplicação tópica por 1 min previamente à ciclagem de pH. Todos os géis apresentaram pH neutro e mesma composição, exceto pela presença do princípio ativo ou não: Placebo- Controle; NaF a 275 ppmF e NaF-5000. Após a aplicação e remoção do gel, os blocos de dentina foram submetidos ao processo de desmineralização e remineralização (DES-RE) durante 5 dias. Foram realizadas 4 desmineralizações com ácido cítrico a 1% durante 1 min em cada dia. Após o desafio ácido, os blocos foram enxaguados abundantemente e estocados em saliva artificial entre os desafios erosivos por 1h. Entre os dias do experimento, cada grupo foi submetido à degradação do colágeno por ação da colagenase de *Clostridium histolyticum* (100 U/mL), sob incubação overnight a 37°C. Ao final da fase experimental, o desgaste da superfície de dentina foi avaliado por perfilometria. Após a transformação logarítmica, os dados foram analisados por ANOVA, seguidos por teste de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). O flúor reduziu significativamente o desgaste nas duas concentrações testadas quando comparados com o grupo placebo, sendo que o na concentração de 5000 ppmF foi significativamente melhor. Portanto, pode-se concluir que o flúor reduziu o desgaste da dentina, o qual pode estar relacionado com seu efeito na preservação da matriz orgânica da dentina.

Palavras-chave: Erosão dentária; Dentina; Flúor.

ABSTRACT

Fluoride has an inhibitory effect on matrix metalloproteinases (MMPs) in the dentin and also in saliva. MMPs are enzymes responsible for the degradation of components rich in collagen, thus having a protective potential against erosive challenges, by the preservation of the collagen layer. The aim of this study was to test its effect in preventing demineralized organic matrix of dentin in an in vitro study. Bovine dentin blocks (4X4X2mm) were randomly divided into 3 groups (n = 13 / group) preventive treatment using topical gel for 1 min prior to pH cycling. All gels showed neutral pH and the same composition, except for the active ingredient present or not: placebo control; NaF and 275 ppmF-5000 NaF. After the application and removal of the gel dentin blocks were submitted to demineralization and remineralization (DE-RE) for 5 days. 4 demineralization was performed with 1% citric acid for 1 min each day. After the acid challenge, the blocks were thoroughly rinsed and stored in artificial saliva between the erosive challenges for 1h. Between the experiment, each group was submitted to degradation of collagen by the action of *Clostridium histolyticum* collagenase (100 U / ml) under overnight incubation at 37°C. At the end of the experimental phase, the wear of the dentin surface was evaluated by profilometry. Following logarithmic transformation, the data were analyzed by ANOVA, followed by Tukey-Kramer test ($p < 0.05$). The fluoride significantly reduced the wear at both concentrations tested as compared with the placebo group, wherein the concentration of the 5000 ppmF was significantly better. Therefore, it can be concluded that fluorine reduced the wear of the dentine, which may be related to its effect in preserving the organic matrix of dentin.

Keywords: Dental erosion; Dentin; Fluoride.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	12
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	14
2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS	14
2.3 TRATAMENTO PREVENTIVO	16
2.4 CICLAGEM DE PH	16
2.5 ANÁLISE DO DESGASTE	17
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
3 RESULTADOS	18
4 DISCUSSÃO	19
5 CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Na dentina, a quantidade de minerais é menor que no esmalte, em função da presença das fibrilas de colágeno. Dessa forma, apenas 47% de seu volume correspondem à hidroxiapatita, 20% à água e 33% a proteínas e lipídeos. A presença de uma superfície dentinária rica em colágeno parece diminuir a difusão de ácidos para o tecido, minimizando a erosão dentária (GANSS et al., 2001; KLETER et al., 1994; KLONT; TEN CATE, 1991; OGAARD et al., 1988). No entanto, essa matriz orgânica pode ser degradada mecânica ou quimicamente, o que facilitará a posterior desmineralização.

Há evidências de que as MMPs presentes na matriz dentinária ou na saliva (BUZALAF et al., 2012) sejam responsáveis pela degradação da dentina desmineralizada. A ativação de MMP-2, MMP-8 e MMP-9 desempenha um papel crucial na degradação do colágeno das lesões de erosão. O baixo pH durante a desmineralização e os períodos de pH neutro devido aos tampões salivares promovem a sequência necessária para que as fibrilas colágenas sejam primeiro expostas e então degradadas pelas MMPs ativadas durante as alterações de pH (BUZALAF et al., 2012; ZARELLA et al., 2016).

Para que a desmineralização do dente ocorra, o meio que o circunda (saliva ou biofilme dentário) deve estar insaturado ou subsaturado em relação aos íons que formam a apatita (cálcio e fosfato). Em contrapartida, quando a saliva ou o biofilme dentário estão supersaturados em relação a estes íons, há incorporação ou deposição, causando a remineralização ou a formação de cálculo na superfície dentária. O grau de saturação do meio em relação à hidroxiapatita está diretamente relacionado ao pH do mesmo. (BUZALAF, 2013). Em um pH abaixo de 5,5, o meio bucal se apresenta subsaturado em relação a hidroxiapatita. Dessa forma, ocorre desmineralização. No entanto, se o pH estiver entre 4,5 e 5,5 na presença de fluoreto o meio ainda se apresenta supersaturado em relação à fluorapatita, podendo esta ser depositada na superfície do esmalte. No caso da erosão, na qual soluções com pH abaixo de 4,0 entram em contato com a estrutura dentária, tornando o meio subsaturado em relação à hidroxiapatita e fluorapatita, haverá dissolução de ambas, ocorrendo uma lesão superficial da estrutura dentária. Assim sendo, a ação do fluoreto na diminuição da desmineralização no pH entre 4,5-5,5, que é relatada para cárie dentária, dificilmente ocorrerá na erosão dentária para a

superfície do esmalte (BARBOUR et al., 2003; STOOKEY, 1997), no entanto, este valor de pH entre 4,5-5,5 provocaria desmineralização na dentina (BUZALAF, 2013), deixando exposta uma matriz orgânica passível de degradação enzimática, como relatado previamente. (BUZALAF et al., 2012; ZARELLA et al., 2016).

Além da ação preventiva do fluoreto, explicada pela formação de uma barreira mecânica, por meio da deposição de fluoreto de cálcio na superfície dentária (BUZALAF, 2013), o flúor demonstrou ação inibitória sobre a atividade das MMPs -2 e -9 (KATO et al., 2014). Já foi relatado o efeito de diferentes inibidores de MMPs na prevenção do desgaste (KATO et al., 2012, KATO et al., 2010a, KATO et al., 2010b, KATO et al., 2009), no entanto, o efeito do flúor como agente inibidor de MMPs ainda não foi relacionado na prevenção do desgaste em dentina em condições erosivas. Kato et al. (2014) verificou que o fluoreto de sódio na concentração de 275 ppmF foi capaz de inibir a atividade gelatinolítica das MMP-2 e -9 purificadas, como das MMPs presentes na saliva. O efeito do flúor teve ação dose-dependente, ou seja, quanto maior a concentração do flúor, maior o efeito inibitório sobre as MMPs, sendo que na concentração de 5000 ppmF, a ação sobre a atividade gelatinolítica foi irreversível.

Seguindo este raciocínio, pensou-se na possibilidade de se testar o fluoreto de sódio em concentrações inibitórias da atividade das MMP-2 e -9 sobre a preservação da matriz de colágeno de dentina desmineralizada e, conseqüentemente, na redução do desgaste erosivo da dentina. Portanto, o objetivo deste estudo, foi analisar o efeito do fluoreto de sódio na preservação da matriz orgânica dentinária em condição erosiva num estudo *in vitro*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo *in vitro* foi realizado utilizando blocos de dentina bovina (n=13/grupo), que foram expostos a quatro ciclos de des-remineralização por dia, durante 5 dias. O estudo foi composto de acordo com o agente presente no gel: gel contendo fluoreto de sódio a 275 ppmF e gel contendo fluoreto de sódio a 5000 ppmF. Foi adicionado mais um grupo, representado por gel placebo (controle negativo). Foram realizadas 4 desmineralizações com ácido cítrico a 1% durante 1 min em cada dia. Após o desafio ácido, os blocos foram enxaguados abundantemente e estocados em saliva artificial entre os desafios erosivos por 1h. Entre os dias do experimento, cada grupo foi submetido à degradação do colágeno por ação da collagenase de *Clostridium histolyticum* (100 U/mL, Collagenase, High-purity, Sigma-Aldrich, EUA) adicionada em 10 ml de saliva artificial (CaCl₂ a 0,70 mmol/L, MgCl₂.6H₂O a 0,20 mmol/L, KH₂PO₄ a 4 mmol/L, KCl a 30 mol/L, NaN₃ a 0,30 mmol/L, Tampão HEPES (ácido) a 20 mmol/L (PASHLEY, 2004), sob incubação *overnight* a 37°C. Após 5 dias de ciclagem, o desgaste da superfície de dentina foi avaliado na interface controle-erosão-controle por análise do gráfico topográfico, utilizando um Perfilômetro (MarSurf GD 25, Mahr, Göttingen, Alemanha).

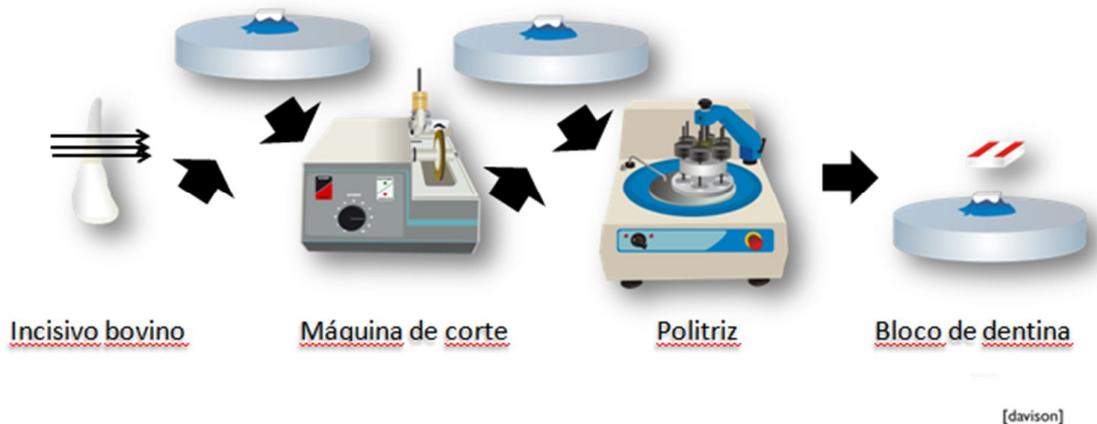
2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para o estudo foi realizada, primeiramente, a obtenção, corte dos dentes e o polimento dos blocos de dentina. Foram extraídos 20 dentes incisivos de bovinos com idade média de 36 meses do Frigorífico Vangélio Mondelli Ltda., em Bauru, SP. Os incisivos foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido periodontal aderido à superfície dentária e posteriormente, armazenados em solução de azida sódica a 0,02% e cloreto de sódio a 0,9%. Os dentes foram fixados com godiva termoativada (Kerr Corporation, EUA) no canto inferior direito de uma pequena placa de acrílico cristal (40mm X 40mm X 5mm) para facilitar a adaptação na máquina de corte. A placa de acrílico foi acoplada em um aparelho de corte de precisão ISOMET Low Speed Saw (Bulher Ltda., Lake Bluff, IL, EUA) e com o auxílio de dois discos diamantados tipo dupla-face – XLI 2205, “high

concentration”, 102 mm X 0,3 mm X 12,7 mm (Extec Corp., Enfield, CT, EUA / Ref: 12.205) e um espaçador de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos com velocidade de 300 rpm, refrigerado com água deionizada, foram obtidos os 30 espécimes de dentina (4 mm X 4 mm) da porção mais plana da coroa (terço médio), através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mesio-distal. Para a planificação dos blocos de dentina, estes foram fixados com cera pegajosa Kota (Kota Ind. e Com. Ltda., São Paulo, SP) no centro de um disco de acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura) com a face do esmalte voltada para o disco no intuito de primeiramente realizar a planificação da dentina. O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, SP) com sistema de polimento múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico no qual foram fixados os espécimes. Para a planificação foram utilizadas lixas de silicone carbide de granulação 320 (Extec Corp.) com refrigeração e com 2 pesos padrão de 6 g, entre 30 s e 7 min, até alcançar a espessura desejada de dentina, obtendo-se os 78 blocos de dentina com espessura de aproximadamente 4 mm X 4 mm.

Em seguida os blocos foram removidos do disco de acrílico e limpos com xilol (MERCK, Darmstadt- GERMANY) para remoção de todo o resíduo. Posteriormente, foram novamente fixados com cera pegajosa no centro da placa de acrílico com a face de dentina voltada contra a placa, para obtenção do desgaste do esmalte até que se alcançasse a dentina. O esmalte foi desgastado com lixas de silicone carbide de granulação 320 (Extec Corp.) com refrigeração, durante 5 min em alta velocidade. Após desgaste do esmalte e ao atingir a dentina foi realizado o polimento destas com lixas de silicone carbide de granulação 600 (Extec Corp.) com refrigeração, durante 1 min em baixa velocidade. Posteriormente, foi realizado o seu polimento com lixas de silicone carbide de granulação 1200 (Extec Corp.), com refrigeração, durante 2 min e 30 s em alta velocidade. Para finalizar o polimento, foi utilizado um feltro (Extec Corp.) umedecido com uma suspensão de diamante de 1 μ m (Buehler) durante 3 min, em alta velocidade com o objetivo de planificar e remover ranhuras dos blocos de dentina para não interferirem durante o processo das análise de perfilometria dos espécimes. É importante ressaltar que entre as trocas das lixas foi utilizado um aparelho de ultra-som T7 Thornton (Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., São Paulo, SP), com frequência de 40 KHz, durante 2 min, com

água destilada deionizada para remoção de remanescentes da lixa. Após o último polimento, foram realizadas duas lavagens de 10 min no ultrassom.



2.3 TRATAMENTO PREVENTIVO

Após o preparo e obtenção dos blocos de dentina (n=30) e aleatorização, estes foram protegidos com esmalte cosmético de unha (duas camadas, secas por 24h) em dois terços da superfície do bloco de dentina, para obtenção de uma superfície de referência para posterior determinação do desgaste. Os blocos foram randomizados e divididos em 3 grupos (n=10/grupo) de tratamento preventivo.

A prevenção consistiu na aplicação de gel tópico, aplicado em uma fina camada, utilizando um *microbrush* durante 1 min. Todos os géis apresentaram pH neutro e mesma composição (hidroxiceulose, propilenoglicol, metilparabeno, imidazolidinil ureia e água deionizada), diferenciando-se pela presença do princípio ativo ou sem princípio ativo (placebo), detalhados os grupos a seguir:

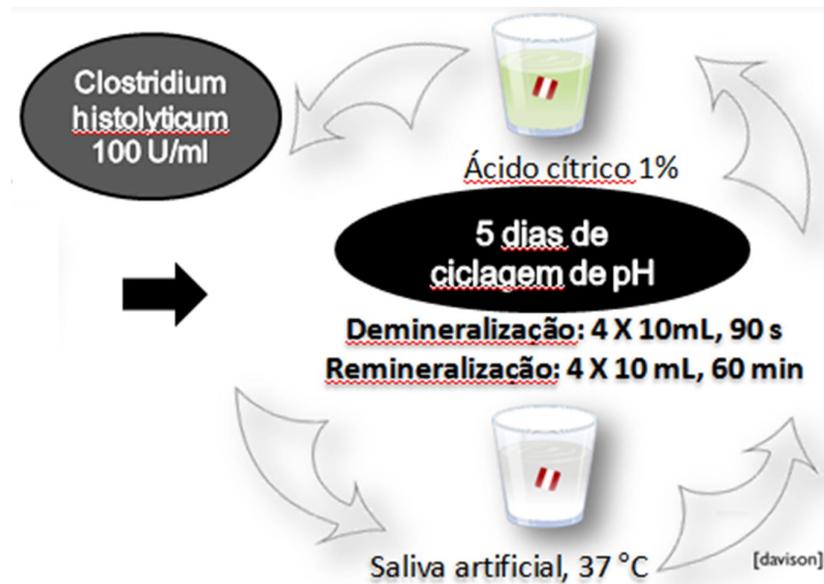
- 1- Placebo- Controle negativo: gel placebo, sem princípio ativo;
- 2 - NaF: gel contendo fluoreto de sódio a 275 ppmF (IC₁₀₀ para o fluoreto de sódio (KATO et al., 2014);
- 3- NaF-5000 Irreversível: gel contendo fluoreto de sódio a 5000 ppmF (concentração inibitória irreversível para atividade das gelatinases (KATO et al., 2014).



Tratamento
1 minuto

2.4 CICLAGEM DE PH

Todos os blocos de dentina foram submetidos ao processo de Desmineralização e Remineralização (DES-RE) durante 5 dias. Foram realizadas 4 desmineralizações com ácido cítrico a 1% durante 1 min em cada dia. Após o desafio ácido, os blocos foram enxaguados abundantemente e estocados em saliva artificial entre os desafios erosivos por 1h. Entre os dias do experimento, cada grupo foi submetido à degradação do colágeno por ação da collagenase de *Clostridium histolyticum* (100 U/mL, Collagenase, High-purity, Sigma-Aldrich, EUA) adicionada em 10 ml de saliva artificial (CaCl₂ a 0,70 mmol/L, MgCl₂.6H₂O a 0,20 mmol/L, KH₂PO₄ a 4 mmol/L, KCl a 30 mol/L, NaN₃ a 0,30 mmol/L, Tampão HEPES (ácido) a 20 mmol/L (PASHLEY, 2004), sob incubação *overnight* a 37°C.



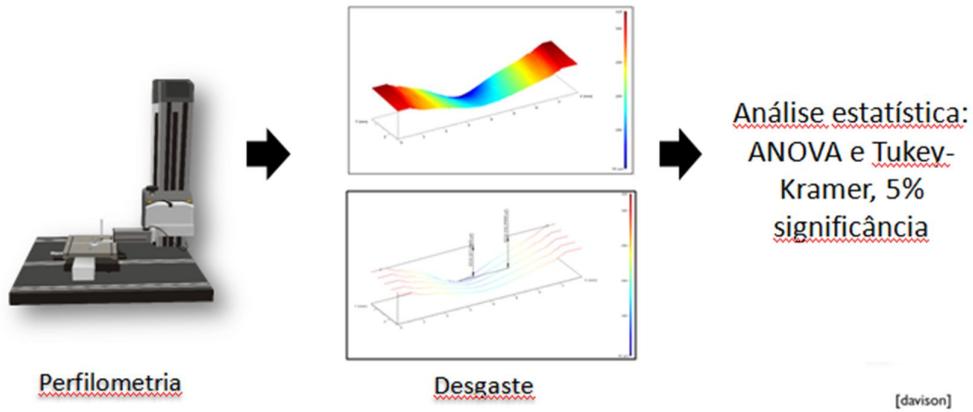
2.5 ANÁLISE DO DESGASTE

Ao final da fase experimental e antes da avaliação de desgaste, o esmalte cosmético de unha foi removido cuidadosamente dos blocos, com uma espátula, evitando-se o contato com a superfície a ser analisada. O desgaste da superfície de dentina foi avaliado na interface controle-erosão-controle por análise do gráfico topográfico, utilizando um Perfilômetro (MarSurf GD 25, Mahr, Göttingen, Alemanha). Para tal, a ponta apalpadora foi posicionada na parte controle, percorrendo da parte erodida até a segunda área controle, perfazendo um percurso de apalpe de aproximadamente 2,5 mm no eixo X e 5 mm no eixo Y. Por meio da utilização do software MarSurf XT 20 (Mahr, Göttingen, Alemanha) instalado em um computador ligado ao Perfilômetro, foi obtido um gráfico topográfico da área total analisada, permitindo quantificar a diferença de altura (eixo Z) entre as faces controle-erosão-controle. Para análise, o gráfico topográfico foi representado pelas linhas de leitura (5 linhas de leitura), o qual foi alinhado sem a utilização de filtro. Portanto, a média de desgaste por bloco representou a média de 10 leituras.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o software InStat versão 3.0 para Windows (Graph Pad software Inc., La Jolla, CA). Após transformação logarítmica, os dados apresentaram distribuição normal e homogêneos (Teste de Bartlett, $p=0,1231$). Sendo assim, os

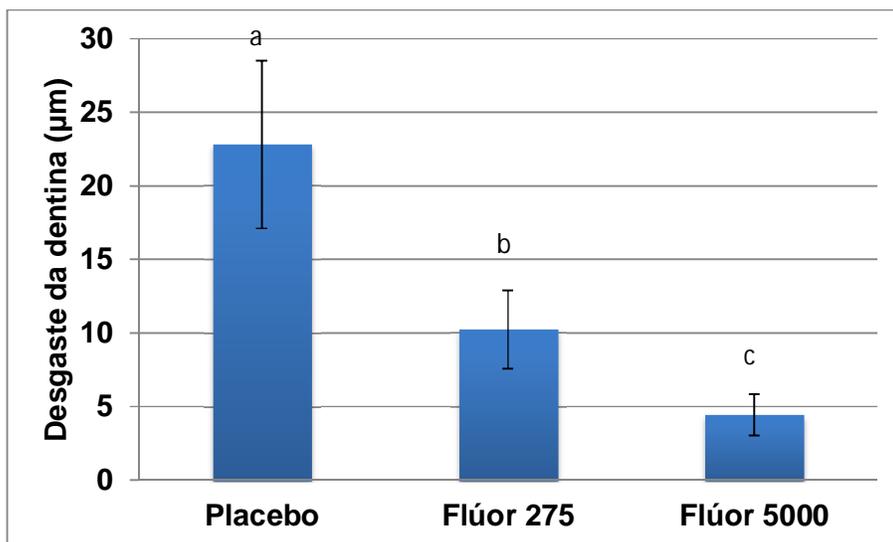
dados foram analisados por ANOVA seguida pelo teste de Tukey-Kramer para as comparações entre os grupos. O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%.



3 RESULTADOS

Tanto o NaF a 275 ppmF ($10,24 \pm 2,66$, $\mu\text{m} \pm \text{DP}$) como a 5000 ppmF ($4,46 \pm 1,41$, $\mu\text{m} \pm \text{DP}$) reduziram significativamente o desgaste quando comparados ao grupo placebo ($22,82 \pm 5,70$, $\mu\text{m} \pm \text{DP}$) ($p < 0,001$). Figura 1.

Figura 1 – Desgaste da dentina (μm ; DP) após tratamento preventivo de acordo com os diferentes grupos, seguido de ciclagem de pH e submetidos *overnight* à degradação de matriz de colágeno entre os 5 dias de ciclagem.



ANOVA seguida pelo teste de Tukey-Kramer após transformação logarítmica dos dados, $p < 0,05$. Letras minúsculas distintas representam diferença significativa entre os grupos de tratamento. $n=13$.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo *in vitro* testou o efeito preventivo do fluoreto de sódio sobre o desgaste da erosão da dentina, utilizando um protocolo de ciclagem de pH. Um modelo experimental com múltiplas exposições ao ácido cítrico e intercaladas com a remineralização, bem como, à ação da colagenase a fim de promover a degradação da matriz de colágeno da dentina desmineralizada, foi utilizada para tentar simular as condições *in vivo*. O protocolo de ciclagem de pH foi realizado por um período de 5 dias. Ao final do quinto dia de desafio erosivo, o desgaste foi significativamente maior (grupo placebo), demonstrando que o ácido utilizado neste estudo foi efetivo na erosão das amostras de dentina. É também provável que o baixo pH do ácido tenha induzido a ativação das MMPs intrínsecas da dentina (TJÄDERHANE et al., 1998). Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa verificou que inibidores de colagenases são capazes de reduzir o desgaste dentinário por desafios erosivos, tais como, chá verde (KATO et al., 2009), devido à presença do polifenol epigallocatechin-gallate (EGCg), o qual mostrou-se efetivo na prevenção do desgaste erosivo (KATO et al., 2010a; KATO et al., 2012), bem como, a clorexidina (KATO et al., 2012) e o fluoreto de sódio (KATO et al., 2014). MMPs são secretadas na forma precursoras inativas (pró-formas), requerendo ativação pelo baixo pH para degradar os componentes da matriz extracelular. No entanto, o efeito da ativação sobre as MMPs intrínsecas da saliva não foi objeto de estudo no presente trabalho. Para agilizar o processo de degradação da matriz de colágeno desmineralizada (dentina desmineralizada imediatamente exposta ao ácido) foi utilizada colagenase bacteriana.

Medidas preventivas para reduzir a erosão dentária, como aplicações tópicas de flúor tem sido investigadas. A maioria desses tratamentos são baseadas sobre a ação do flúor, a qual pode ser explicada pela formação de uma barreira mecânica por meio da deposição de fluoreto de cálcio na superfície dentária (BUZALAF, 2013). No entanto, o flúor na prevenção da erosão ainda é controversia (WIEGANG, 2003). Além disso, a maioria dos estudos analisando o efeito do fluoreto reportam o aumento no processo de remineralização e aumento da resistência ao desafio ácido. No entanto, estudos apontam outro possível mecanismo de ação do flúor e que poderia explicar o melhor resultado obtido pelo grupo do NaF a 5000 ppmF (KATO et

al., 2014). O NaF foi reportado possuir efeito inibitório sobre as MMPs, sendo que na concentração de 5000 ppmF apresentou inibição irreversível da atividade das MMP-2, MMP-9 salivares ou endógenas (KATO et al., 2014). Resultados similares foram descritos por Moron et al., (2013) ao testarem diferentes concentrações de flúor e pH em formulações experimentais de dentifrício líquido sobre a erosão/ abrasão de esmalte e dentina num protocolo de ciclagem de pH. Dentifrício líquido com concentrações de 1100 ou 5000 ppmF reduziram significativamente o desgaste de dentina. Os autores relacionaram o efeito do flúor à possível consistência do dentifrício, uma vez que quando comparados aos dentifrícios comerciais com as mesmas concentrações não houve redução do desgaste. Pode-se e especular que os dentifrícios líquidos permitem maior formação de CaF_2 em comparação com dentifrícios comerciais (MORON et al., 2013). Esta especulação baseou-se num estudo clínico prévio mostrando que os dentifrícios líquidos aumentaram a incorporação de fluoreto na placa dentária em comparação com dentifrícios comerciais (BUZALAF, 2009). No presente estudo, os princípios ativos foram testados incorporados a um gel de aplicação tópica, o qual é bastante similar à consistência dos dentifrícios líquidos, com exceção dos componentes abrasivos e de ação detergente presentes nos dentifrícios. Além disso, o gel de aplicação possui propriedades umectantes, proporcionadas pela presença da hidroxixelulose e do propilenoglicol, o que poderia facilitar o poder difusor do princípio ativo sobre a dentina desmineralizada. O gel de aplicação tópica também tem demonstrado resultados superiores (KATO et al., 2010a) quando comparados a outros veículos de aplicação como na forma de enxaguatório bucal (MAGALHÃES et al., 2009) ou dentifrício (HANNAS et al., 2016), confirmando a hipótese de que a consistência pode também ter um impacto sobre o efeito do produto testado.

A ação de fluoretos parece ter associação com o tipo do fluoreto. Fluoretos convencionais, tais como NaF incluídos nos dentifrícios experimentais, é atribuída principalmente a uma precipitação de material CaF_2 -like nas superfícies dos dentes (BUZALAF, 2013), que é capaz de reduzir o desgaste do dente parcialmente por desafios erosivos e abrasivo subsequentes. Esta camada comporta-se como uma barreira física, impedindo o contato do ácido com o esmalte subjacente, ou como um reservatório mineral que é atacada pelo desafio erosivo, exercendo um efeito tamponante e remineralizante (MAGALHÃES et al., 2011). Pesquisas mais recentes tem incidido sobre o efeito dos diferentes compostos de flúor (NaF - fluoreto de

sódio, AMF - fluoreto de amina, TiF_4 - tetrafluoreto de titânio, SnF_2 - fluoreto de estanho). É difícil comparar os diferentes sais e o efeito associado do flúor com outros íons (MAGALHÃES et al., 2011). No caso do NaF foi demonstrado que além do seu efeito como fonte de flúor na forma de CaF_2 , também exerce efeito inibitório sobre as MMPs (Kato et al, 2014). O Na^+ não exerceria efeito conhecido sobre a atividade das MMPs ou sobre o processo de des-remineralização na dentina, no entanto, o estanho e o titânio do SnF_2 e TiF_4 , respectivamente poderiam exercer outros efeitos dos já conhecidos e que podem ser testados em trabalhos futuros. Independentemente do componente do fluoreto, o fato é que o flúor parece exercer mecanismos complementares contra o desafio ácido para a dentina, ou seja, tanto como agente remineralizante como inibidor de protease. Já a concentração do flúor também teria efeito considerável, uma vez que o grupo do NaF a 5000 ppmF, demonstrou o melhor efeito sobre a redução do desgaste da dentina. O NaF a 275 ppmF que representa concentração ocorre 100% de inibição das MMPs, não apresentou resultados tão relevantes como o NaF a 5000 ppmF. Nesta concentração teria ação irreversível sobre a atividade da MMP-2 e MMP-9 (KATO et al., 2014), como seria fonte de alta concentração do princípio ativo para exercer seu efeito tamponante e remineralizante. Em estudos prévios realizados pelo nosso grupo, o gel contendo NaF a 12.300 ppmF reduziu o desgaste da dentina (KATO et al., 2010a; KATO et al., 2012), mas não de maneira tão expressiva no presente trabalho. Entretanto, nos estudos anteriores, o gel contendo naF a 12.300 ppm F foi aplicado apenas uma vez, e os espécimes foram submetidos a desafios durante 5 dias. Os resultados aqui obtidos reforçam a necessidade de se aumentar a frequência de aplicação dos compostos fluoretos para aumentar a sua eficácia para a prevenção de erosão (BUZALAF, 2013).

5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o flúor reduziu o desgaste da dentina, o qual pode estar relacionado com seu efeito na preservação da matriz orgânica da dentina.

REFERÊNCIAS

- Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 428-433.
- Buzalaf MA, Kato MT, Hannas AR: The role of matrix metalloproteinases in dental erosion. *Adv Dent Res* 2012;24:72-76.
- Buzalaf MA. *Fluoretos e Saúde Bucal*. 2. Ed. – São Paulo: Santos, 2013.
- Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T: Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res* 2001;35:325-330.
- Hannas AR, Kato MT, Cardoso C de A, Magalhães AC, Pereira JC, Tjäderhane L, Buzalaf MA: Preventive effect of toothpastes with MMP inhibitors on human dentine erosion and abrasion in vitro. *J Appl Oral Sci*. 2016 Jan-Feb;24(1):61-6.
- Kato MT, Bolanho A, Zarella BL, Salo T, Tjäderhane L, Buzalaf MA: Sodium fluoride inhibits MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res* 2014; 93:74-77.
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Buzalaf MA: Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ. *J Dent Res* 2010a;89:468-472.
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Calábria MP, Magalhães AC, Pereira JC, Buzalaf MA: Impact of protease inhibitors on dentin matrix degradation by collagenase. *J Dent Res* 2012;91:1119-1123.
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Oliveira RC, Pereira JC, Tjäderhane L, Buzalaf MA: Effect of iron on matrix metalloproteinase inhibition and on the prevention of dentine erosion. *Caries Res* 2010b;44:309-316.
- Kato MT, Magalhães AC, Rios D, Attin T, Buzalaf MA: The protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion: An in situ study. *J Appl Oral Sci* 2009.
- Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM: The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res* 1994;73:1523-1529.
- Klont B, ten Cate JM: Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: The role of the collagenous matrix. *Caries Res* 1991;25:39-45.

- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MA: Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. *J Dent* 2009;37:994-998.
- Magalhães AC , Wiegand A, Rios D , Buzalaf MA , Lussi A. Impact of Fluoride in the Prevention of Caries and Erosion. *Monogr Sci Oral* 2011; 22:158 -170.
- Moron, B.M., Miyazaki S. S. H., Ito, Wiegand A., Vilhena F., Buzalaf M. A. R., Magalhães A. C .Impact of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on tooth erosion/abrasion in vitro. *Aust Dent J.* 2013 Mar; 58(1): 106–111. Published online 2013 Jan 30. doi: 10.1111/adj.12016.
- Ogaard B, Rolla G, Arends J: In vivo progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. *Caries Res* 1988;22:302-305.
- Stookey G.K. Reactor paper concerning patient selection and appliance design in intra-oral models. *J Dent Res* 1992; 71:911-912.
- Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto V-J, Larmas M, Salo T: The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998;77:1622-1629.
- Wiegand A, Attin T: Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions: a review. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(4):245-53.

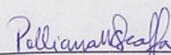
ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em odontologia de Paulo Felipe dos Santos Ribeiro.

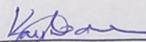
Ao dia vinte e oito de outubro de dois mil e dezesseis, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Paulo Felipe dos Santos Ribeiro intitulado: "**Efeito do gel de flúor na preservação da matriz de colágeno dentinária em condição erosiva**". Compuseram a banca examinadora os professores Dra. Melissa Thiemi Kato, Dra. Polliana Mendes Candia Scaffa e Dra. Karin Cristina da Silva Modena. Após a exposição oral, o candidato foi arguido pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, APROVÁ-LO, com a nota 10,0 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pelo Orientador e pelos demais membros da banca.



Dra. Melissa Thiemi Kato (Orientadora)



Dra. Polliana Mendes Candia Scaffa (Avaliador 1)



Dra. Karin Cristina da Silva Modena (Avaliador 2)