



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA



**IMPACTO DA ENZIMA DIGESTIVA PEPSINA E EFICÁCIA PREVENTIVA DO
GEL DE PARTÍCULAS DE VIDRO PRÉ-REAGIDO NA EROSÃO DO ESMALTE
COM PELÍCULA ADQUIRIDA**



SÃO LUÍS
2024

MAYRON GUEDES SILVA

**IMPACTO DA ENZIMA DIGESTIVA PEPSINA E EFICÁCIA PREVENTIVA DO GEL
DE PARTÍCULAS DE VIDRO PRÉ-REAGIDO NA EROSÃO DO ESMALTE COM
PELÍCULA ADQUIRIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Leily Macedo Firoozmand

SÃO LUÍS
2024

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Silva, Mayron Guedes.

Impacto da enzima digestiva pepsina e eficácia preventiva do gel de partículas de vidro pré-reagido na erosão do esmalte com película adquirida / Mayron Guedes Silva. - 2024.

48 p.

Orientador(a): Leily Macedo Firoozmand.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, 2024.

1. Erosão Dentária. 2. Esmalte Dentário. 3. Refluxo Gastroesofágico. 4. Pepsina. 5. Biomateriais. I. Firoozmand, Leily Macedo. II. Título.

MAYRON GUEDES SILVA

**IMPACTO DA ENZIMA DIGESTIVA PEPSINA E EFICÁCIA PREVENTIVA DO GEL
DE PARTÍCULAS DE VIDRO PRÉ-REAGIDO NA EROSÃO DO ESMALTE COM
PELÍCULA ADQUIRIDA**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado em Odontologia,
em sessão pública realizada no dia 17 / 12 / 2024 , considerou a candidato(a):

APROVADO

REPROVADO

- 1) Examinador: Prof.^a Dr.^a Adriana Bona Matos (Universidade Católica Portuguesa)
- 2) Examinador: Prof. Dr. Edilausson Moreno Carvalho (Universidade CEUMA)
- 3) Presidente (Orientadora): Prof.^a Dr.^a Leily Macedo Firoozmand

***"Se você está se perguntando em qual direção seguir,
lembre-se de que sua carreira jamais te abandonará."***

— Lady Gaga

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Márcio Carlos e Danielle Guedes, e ao meu irmão, Raphael Guedes, por todo apoio e incentivo constantes durante toda a jornada do mestrado e nas diversas fases da minha vida. Sei que nada foi fácil, e que para chegar até aqui, muitos sacrifícios foram feitos. Sou eternamente grato pelos ensinamentos e por sonharem este sonho comigo. Nada disso teria sido possível sem vocês.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter abençoado todos os dias da minha vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.

A todos da minha **família**, que contribuíram de forma direta ou indireta, meu muito obrigado. O amor, carinho e confiança que sempre depositaram em mim fazem toda a diferença em minha trajetória.

À **Prof^a Leily Macedo Firoozmand**, minha eterna gratidão pela orientação valiosa, sem a qual a conclusão deste trabalho não teria sido possível. Agradeço pelos ensinamentos e correções ao longo de toda a minha trajetória, que se iniciou na iniciação científica durante a graduação. Sua disponibilidade e paciência para ensinar são verdadeiramente admiráveis. Também agradeço ao **Prof^o Alan Silva de Menezes**, pela contribuição e pela disposição em ajudar na análise e construção deste trabalho. A todos os **professores do PPGO**, sou grato pela dedicação e pelo profissionalismo com os quais compartilharam seus conhecimentos durante toda a pós-graduação. Obrigado por tudo!

À aluna de iniciação científica, **Klícia Sousa**, agradeço profundamente pela incansável ajuda e pelo companheirismo no laboratório durante o desenvolvimento dos experimentos.

Agradeço ainda aos **técnicos** do laboratório de Bioquímica e Microbiologia do PPGO-UFMA, em especial ao **Ivaldo Filho**, pelo suporte fundamental na realização dos experimentos.

Aos meus **amigos de turma**, que estiveram ao meu lado nesta jornada da pós-graduação em Odontologia, compartilho minha gratidão pelos momentos de alegria dentro e fora da universidade. Em especial, agradeço a **Geyna Aguiar, Abigail Pires, Felipe Catarino, Luiza Queiroz, Jessilene Ribeiro, Luís Gustavo, Camilla Galana, Shirley Cardoso, Handreza Campos, Eulla Pamella, Luana Barbieri, Vinícius Barros, Izis Carulina, Flávia Carneiro**, e a todos os amigos e colegas que, direta ou indiretamente, fizeram parte da minha formação durante o mestrado.

Aos meus amigos de vida, em especial **Renato Silva, Suzy Amaral, Lucas Silva, Sarah França, Débora Varela, Catarina Enya, Leo Garcez, Lisandra Maria, Tânia Cristine e Rafael Amaral**, agradeço por tornarem o caminho até aqui mais leve; pelos conselhos, apoio e compreensão nos momentos de ausência e mau humor. Sou grato por todos os momentos que compartilhamos ao longo de todos esses anos de amizade. Agradeço também a meu querido **Matheus Vasconcelos**, pelo suporte e companheirismo constantes.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo auxílio na concessão de bolsa, fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 – Desenho esquemático do preparo, ciclo diário e realização dos testes.....	19
Fig. 2 – Esquema do ciclo experimental diário.....	23
Fig. 3 – Análise comparativa da porcentagem de perda de microdureza superficial entre os grupos experimentais.....	25
Fig. 4 – Imagens representativas de MEV da morfologia da superfície do esmalte hígido com análise microquímica por EDX.	26
Fig. 5 – Imagens representativas de MEV da morfologia da superfície do gel contendo partículas de S-PRG com análise microquímica por EDX.....	27
Fig. 6 – Imagens representativas de MEV da morfologia da superfície (1.200×) e análise elementar por EDX dos grupos experimentais.....	28
Fig. 7 – Padrões típicos de difração de raios X das amostras de esmalte iniciais (A) e do gel contendo partículas de S-PRG (B).	29
Fig. 8 – Padrões típicos de difração de raios X das amostras de esmalte antes e depois dos desafios erosivos dos grupos experimentais.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Al³⁺ – Alumínio

B – Boro

BO₃³⁻ – Ortoborato

Ca – Cálcio

DRGE – Doença do Refluxo Gastroesofágico

DRX – Difração de Raios-X

EDS – Espectroscopia de Energia Dispersiva

F⁻ – Flúor

HAp – Hidroxiapatita

HCl – Ácido clorídrico

ICDD – *International Centre for Diffraction Data*

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

Na⁺ – Sódio

NaF – Fluoreto de sódio

OCP – Fosfato Octacálcico

P – Fósforo

PAE – Película Adquirida do Esmalte

pH – Potencial Hidrogeniônico

RGE – Refluxo Gastroesofágico

SiO₃²⁻ – Silicato

S-PRG – *Surface Pre-Reacted Glass-Ionomer*

Sr²⁺ – Estrôncio

[ort] – Ortorrômico

[cub] – Cúbico

%SHL – Porcentagem de Perda de Microdureza

Superficial

RESUMO

O aumento da erosão dentária em pacientes com Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) ressalta a importância de investigar o papel das enzimas presentes no ácido gástrico na degradação da superfície dental. O objetivo deste estudo é avaliar, *in vitro*, a influência da pepsina na erosão do esmalte com película adquirida e o efeito protetor do gel contendo partículas de ionômero de vidro pré-reagido (S-PRG). Amostras de esmalte dentário bovino foram confeccionadas (6 x 6 x 2 mm) e padronizadas por meio da mensuração da microdureza superficial do esmalte (SHbaseline). As amostras foram randomizadas e alocadas em dois grupos experimentais (n = 24): HCl (exposição modelo erosivo de ácido clorídrico, pH 2,0) e HCl+Pep (exposição ao modelo erosivo associado à pepsina, pH 2,0). Para verificar a influência dos tratamentos sob estas condições experimentais, cada grupo foi subdividido de acordo com os tratamentos: SPRG [imersão em gel bioativo S-PRG; pH 6,4; proporção 1:1 (PRG Pro-Care Gel, Shofu)] e DW (água deionizada – controle, pH 6,4). Para simular a película adquirida, foi coletada saliva de um voluntário saudável, centrifugada e utilizada para a imersão diária das amostras antes dos desafios erosivos (2h, pH 7,1). O modelo de ciclagem erosiva foi realizado por um período de 9 dias e incluiu imersões diárias das amostras na solução erosiva ácida de HCl (6 x 5min), intercaladas com saliva artificial (6 x 2h). Para os tratamentos, cada amostra foi imersa em 2 ml da solução correspondente por 2 min e todos os procedimentos foram realizados sob agitação a 100 rpm e a 37 °C. Após os 9 dias experimentais, foi medida a microdureza (SHfinal) e calculada a perda de dureza superficial (%SHL). Para a caracterização das superfícies, foram realizadas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS) para avaliar a morfologia e composição microquímica do esmalte e do gel bioativo contendo partículas de S-PRG. Difração de Raios X (DRX) foi realizada para observar alterações nos cristais de hidroxiapatita dos blocos tratados. A análise estatística dos dados de %SHL utilizou ANOVA *one-way* seguida de teste *pos-hoc* de Tukey (p < 0,05), com nível de significância de 5%, enquanto os dados morfológicos e microquímicos foram interpretados descritivamente. Verificou-se que o grupo HCl+Pep promoveu maior %SHL (p < 0,001) do que o grupo HCl, e a exposição preventiva ao gel contendo partículas de S-PRG não alterou significativamente a %SHL (p > 0,05). Imagens de MEV exibiram intensas perdas minerais nas regiões interprismáticas do esmalte no grupo HCl+Pep/DW. HCl/SPRG exibiu nichos com menor degradação estrutural. A análise de DRX revelou alterações na microestrutura dos cristais de hidroxiapatita, sem recristalização significativa, e detecções de novas fases cristalinas, como o fosfato octacálcico (OCP) foram encontradas nos grupos tratados com S-PRG. Conclui-se que pepsina associada ao ciclo erosivo promove maior perda de microdureza superficial do esmalte dentário, promovendo degradação morfológica da superfície, alterações na microestrutura dos cristais de hidroxiapatita, e redução nas concentrações de cálcio e fósforo. Além disso, embora o gel contendo partículas de S-PRG tenha auxiliado na formação do OCP, precursor da hidroxiapatita, este não foi capaz de impedir a perda de microdureza superficial do esmalte.

PALAVRAS-CHAVE: Biomateriais; Erosão Dentária; Esmalte Dentário; Pepsina; Prevenção e Controle; Refluxo Gastroesofágico.

ABSTRACT

The increase in dental erosion in patients with Gastroesophageal Reflux Disease (GERD) highlights the importance of investigating the role of gastric acid enzymes in dental surface degradation. This study aims to evaluate, *in vitro*, the influence of pepsin on enamel erosion progression with acquired pellicle and the protective effect of a gel containing pre-reacted glass-ionomer particles (S-PRG). Bovine dental enamel samples (6 x 6 x 2 mm) were prepared and standardized by measuring surface microhardness (SH_{baseline}). The samples were randomized into two experimental groups (n = 24): HCl (acidic hydrochloric acid erosive model, pH 2.0) and HCl+Pep (erosive model with pepsin, pH 2.0). Each group was subdivided based on treatments: SPRG [immersion in bioactive S-PRG gel; pH 6.4; 1:1 ratio (PRG Pro-Care Gel, Shofu)] and DW (deionized water – control, pH 6.4). To simulate the acquired pellicle, saliva from a healthy volunteer was collected, centrifuged, and used for daily immersion of the samples before erosive challenges (2h, pH 7.1). The erosive cycling model was conducted for 9 days, with daily immersions of the samples in acidic HCl solution (6 x 5 min), interspersed with artificial saliva (6 x 2 h). For treatments, each sample was immersed in 2 mL of the corresponding solution for 2 min, and all procedures were carried out with agitation at 100 rpm and 37°C. After 9 experimental days, microhardness (SH_{final}) was measured, and surface hardness loss (%SHL) was calculated. Surface characterization included Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) to assess morphology and microchemical composition of enamel and the bioactive gel containing S-PRG particles. X-ray Diffraction (XRD) was performed to observe changes in the hydroxyapatite crystals of the treated blocks. Statistical analysis of %SHL data used one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test ($p < 0.05$), with a significance level of 5%, while morphological and microchemical data were interpreted descriptively. The HCl+Pep group showed higher %SHL ($p < 0.001$) than the HCl group, and preventive exposure to the gel containing S-PRG particles did not significantly alter %SHL ($p > 0.05$). SEM images revealed intense mineral loss in the interprismatic regions of enamel in the HCl+Pep/DW group. HCl/SPRG showed regions with less structural degradation. XRD analysis revealed alterations in the microstructure of hydroxyapatite crystals, without significant recrystallization, and new crystalline phases, such as strontium-apatite and fluoroapatite, were detected in the S-PRG-treated groups. It is concluded that pepsin, combined with the erosive cycle, promotes greater surface microhardness loss of dental enamel, causing morphological degradation of the surface, changes in the microstructure of hydroxyapatite crystals, and reductions in calcium and phosphorus concentrations. Additionally, although the gel containing S-PRG particles facilitated the formation of OCP, the precursor of hydroxyapatite, it did not prevent the loss of enamel surface hardness.

KEYWORDS: Biomaterials; Dental Enamel; Gastroesophageal Reflux; Pepsin; Prevention and Control; Tooth Erosion.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
CAPÍTULO I – Artigo	15
RESUMO	16
DESTAQUES	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.1 Desenho do estudo	19
2.2 Cálculo Amostral	20
2.1 Preparo dos blocos de esmalte	20
2.2 Coleta da saliva e Formação da Película Adquirida	21
2.3 Delineamento Experimental	21
2.4 Avaliação da Perda de Microdureza Superficial	23
2.5 Avaliação morfológica e composição microquímica superficial do esmalte e do gel bioativo	23
2.6 Avaliação por difração de raio-X (DRX)	24
2.7 Análise Estatística	24
3 RESULTADOS	25
3.1 Porcentagem de perda de microdureza superficial (%SHL)	25
3.2 Morfologia superficial e composição microquímica (Análises de MEV/EDS)	26
3.3 Análise por Difração de Raios-X	29
4 DISCUSSÃO	31
5 CONCLUSÃO	35
FINANCIAMENTO	36
DECLARAÇÃO DE INTERESSE CONCORRENTE	36
AGRADECIMENTOS	36
REFERÊNCIAS	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS	43
ANEXO A: COMPROVANTE DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA	46

INTRODUÇÃO

A erosão dental, definida como perda química de substância mineralizada do dente causada pela exposição a ácidos não derivados de bactérias orais (Schlueter *et al.*, 2020), é um fenômeno multifatorial que resulta na perda progressiva e irreversível da estrutura dental (Né *et al.*, 2022). A exposição contínua a ácidos pode intensificar esse desgaste, seja por fatores extrínsecos, como a dieta e o ambiente, ou intrínsecos, como a Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) (Chakraborty; Anjankar, 2022).

A relação entre o refluxo gastroesofágico e a saúde bucal tem sido cada vez mais evidenciada em pesquisas recentes. A DRGE, caracterizada pelo refluxo anormal de conteúdo gástrico ácido para o esôfago, é uma condição que afeta milhões de pessoas em todo o mundo (Nirwan *et al.*, 2020) e de significativa relevância clínica (Zhang *et al.*, 2022). O contato do suco gástrico – composto por ácido clorídrico e pepsina – com os tecidos bucais eleva o risco de erosão dental em pacientes acometidos (Faraoni *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022), uma vez que a acidez gástrica pode reduzir o pH da cavidade oral para abaixo de 5,5 por cerca de 4,3 minutos ao longo de 24 horas (Bartlett *et al.*, 1996). Além disso, em estágios moderados, a frequência de refluxos pode chegar a mais de 6 episódios por dia (Schlueter *et al.*, 2010).

A prevalência de erosão dental em pacientes com Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) é elevada, atingindo até 98,1% em adultos (Ortiz *et al.*, 2021) e 52% em crianças (Lechien *et al.*, 2020), com indivíduos com DRGE apresentando 3,3 vezes mais risco de desenvolver erosão dental (Picos; Badea; Dumitrascu, 2018). No entanto, nem todos os pacientes com DRGE desenvolvem essa condição (Chatzidimitriou *et al.*, 2023), sugerindo a influência de fatores adicionais como baixo pH oral, redução do fluxo salivar e alterações nos componentes salivares (Di Fede *et al.*, 2008; Lechien *et al.*, 2020). A saliva desempenha um papel crucial na proteção dos dentes, sendo rica em minerais como cálcio, fosfato e flúor, que promovem a remineralização dental e neutralizam ácidos (Carvalho; Baumann; Lussi, 2016; Hellwig; Lussi; Goetz, 2013). Além disso, as proteínas salivares formam a película adquirida do esmalte (PAE), criando uma barreira protetora contra a ação ácida (Carvalho *et al.*, 2020). Contudo, a capacidade protetora da saliva e da PAE é limitada pela permeabilidade a íons e pela ação de enzimas proteolíticas (Aljulayfi *et al.*, 2022), indicando que o complexo

proteômico da saliva e da PAE influencia significativamente a proteção contra a erosão dentária em pacientes com DRGE (Carvalho *et al.*, 2020).

Apesar dessas associações, pouco se sabe sobre o efeito direto da pepsina no esmalte dentário e seu papel nos estágios iniciais do processo erosivo. A pepsina, uma enzima proteolítica presente apenas no suco gástrico, tem sido identificada como um potencial biomarcador de DRGE quando detectada em áreas como garganta e boca (Wang *et al.*, 2020; Yadlapati *et al.*, 2021). Entretanto, até o momento, a maioria dos estudos investigaram apenas os efeitos dessa enzima nos tecido dentinários (Moda *et al.*, 2019; Schlueter *et al.*, 2010, 2012a, 2012b). No esmalte, há uma leve evidência sugerindo a influência da pepsina no esmalte dental (Faraoni *et al.*, 2020). No entanto, foi utilizada apenas o teste de perfilometria, que é considerado menos adequado para a avaliação de lesões erosivas iniciais (Schlueter *et al.*, 2011). Dada a crescente prevalência de erosão dentária e os possíveis efeitos da pepsina nesse processo, é fundamental esclarecer o papel dessa enzima nas fases iniciais da degradação dental.

Nesse cenário, o uso de biomateriais, especialmente aqueles empregados na prevenção de desgaste e/ou reposição do conteúdo mineral do substrato dental, tem ganhado grande ênfase (Iftikhar *et al.*, 2021). Tais materiais incluem, entre outros, o fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) (Alexandria *et al.*, 2020), os biovidros (BAGs) (Dionysopoulos, 2024), nano-hidroxiapatita (Dionysopoulos *et al.*, 2019) e tetrafluoreto de titânio (TiF₄) (Vertuan *et al.*, 2024). Essas substâncias atuam modificando as superfícies dentais por meio da formação de novos minerais, reduzindo a solubilidade dos cristais de hidroxiapatita frente a ataques ácidos e/ou favorecendo a formação de camadas protetoras na superfície do esmalte.

Além destes materiais, tem sido introduzido no comércio materiais preventivos e restauradores que possuem em sua composição partículas de ionômero de vidro pré-reagido (S-PRG), resultado da reação do ácido-base entre o vidro de flúor-boro-alumino-silicato e o ácido poliacrílico (Fujimoto *et al.*, 2010). Estes materiais que apresentam a tecnologia GIOMER foram apresentados como potencialmente capazes de contribuir com a redução da desmineralização, provocada pela nucleação da apatita e pela melhoria da resistência ácida (Spinola *et al.*, 2020; Yoshiyasu *et al.*, 2022). A incorporação das partículas de S-PRG visa conferir características bioativas ao material pois estes são capazes de liberar seis tipos de íons como F⁻, Na⁺, Sr²⁺, Al³⁺, BO₃³⁻, SiO₃²⁻ (Fujimoto *et al.*, 2010; Yoshiyasu *et al.*, 2022). Quando

em contato com fluídos biológicos, esses íons contribuem para a remineralização e neutralização de ácidos na cavidade oral (Murayama *et al.*, 2018).

Diversos estudos evidenciam o efeito das partículas de ionômero de vidro pré-reagido (S-PRG) contra desmineralização causada pela cárie (Amaechi *et al.*, 2017, 2018; Bergantin *et al.*, 2022; Inoue *et al.*, 2022; Itota *et al.*, 2004; Kawasaki; Kambara, 2014; Spinola *et al.*, 2020; Yoshiyasu *et al.*, 2022), contudo, o efeito protetor das partículas de S-PRG contra erosão dentária merece investigações. Estas partículas têm sido incorporadas em diversos materiais preventivos e restauradores, como o PRG Pro-Care Gel® (SHOFU), um gel bioativo com tecnologia Giomer, baseada nas partículas S-PRG (5% em peso de preenchimento). Este material foi desenvolvido e comercializado com a apresentação na forma de pasta/gel indicada para, entre outras finalidades, profilaxia dentária, ao redor de *brackets* ortodônticos, gengivite, desgaste dentário erosivo e para paciente com alto risco de cárie. No entanto, pesquisas sobre este produto ainda são escassas.

Assim, este estudo *in vitro* teve como objetivo investigar a influência da pepsina na erosão do esmalte dentário, bem como avaliar o efeito de um gel contendo partículas de S-PRG na prevenção da erosão dentária. As hipóteses nulas levantadas são: (I) não há influência da pepsina na perda de microdureza superficial do esmalte dentário com película adquirida em meio a ciclos erosivos, (II) não há diferença na microdureza superficial do esmalte dentário tratado com gel contendo partículas de S-PRG exposto a ciclos erosivos associados ou não a pepsina.

CAPÍTULO I

Artigo corrigido, traduzido, revisado e publicado na revista *Journal of Dentistry*, volume 160, artigo 105890, *copyright* Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2025.105890>

Impacto da enzima digestiva pepsina na erosão do esmalte e eficácia protetora do gel de partículas de vidro pré-reagido

Mayron Guedes Silva ^a, Klícia Kallynne Cutrim Sousa ^b, Alan Silva de Menezes ^c,
Leily Macedo Firoozmand ^a

^a Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

^b Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

^c Departamento de Física, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

Notas do autor:

Mayron Guedes Silva – <https://orcid.org/0000-0002-0301-5385>

Klícia Kallynne Cutrim Sousa – <https://orcid.org/0009-0005-7400-0569>

Alan Silva de Menezes – <https://orcid.org/0000-0002-8817-0156>

Leily Macedo Firoozmand – <https://orcid.org/0000-0002-8634-188X>

Autor Correspondente:

Leily Macedo Firoozmand

Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Avenida dos Portugueses, 1966 – Vila Bacanga

CEP: 65.080-805, São Luís, MA, Brasil.

Telefone: + 55 98 3272 857

E-mail: leily.firoozmand@ufma.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar, *in vitro*, o impacto da pepsina na erosão do esmalte na presença de película adquirida e o efeito protetor de um gel contendo partículas de ionômero de vidro pré-reagido (S-PRG), por meio da avaliação de perda de microdureza superficial.

Desenho: Blocos de esmalte dentário bovino foram preparados, padronizados e randomizados em dois grupos experimentais (n = 24/grupo): HCl –modelo erosivo apenas com HCl, e HCl+Pep – modelo erosivo associado a pepsina. Cada grupo foi subdividido em dois pré-tratamentos (n = 12/grupo): SPRG (exposição ao gel bioativo S-PRG) e DW (imersão em água deionizada, controle). Preliminarmente, a microdureza inicial foi mensurada. Após padronização, as amostras foram imersas em saliva humana para formação da película adquirida e expostas ao modelo erosivo por 9 dias. Perda de dureza superficial (%SHL), alterações morfológicas e de composição mineral (microscopia eletrônica de varredura [MEV]/espectroscopia de raios X por dispersão de energia) e características cristalinas (difração de raios X [XRD]) foram analisadas. A análise estatística foi realizada usando ANOVA *one-way* ($p < 0,05$).

Resultados: O grupo HCl+Pep apresentou %SHL significativamente maior do que o grupo apenas com HCl ($p < 0,001$). O pré-tratamento com gel de S-PRG não reduziu a %SHL do esmalte ($p > 0,05$). As imagens de MEV exibiram intensas perdas minerais nas regiões interprismáticas no grupo HCl+Pep/DW, enquanto o grupo HCl/SPRG exibiu nichos com menor degradação. A análise de DRX revelou alterações na microestrutura da hidroxiapatita (HAp), com a formação de fases cristalinas do fosfato octacálcico (OCP), no grupo HCl/SPRG.

Conclusão: A presença da pepsina potencializa a erosão no esmalte, aumentando a %SHL e alterando a morfologia e padrão dos cristais de HAp. Apesar do pré-tratamento com o gel S-PRG não ter prevenido a %SHL, este facilitou a formação de novas fases cristalinas, levando à redução da degradação do esmalte.

Palavras-chave: Biomateriais; Esmalte Dentário; Refluxo Gastroesofágico; Pepsina; Prevenção e Controle; Erosão Dentária.

DESTAQUES

- A pepsina aumenta significativamente a perda de microdureza superficial do esmalte.
- Em condições erosivas, o gel S-PRG promove a formação de OCP no esmalte.
- Controlar a atividade da pepsina pode ser uma estratégia crucial para mitigar a erosão clínica do esmalte.

SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA: A pepsina agrava a erosão do esmalte, intensificando a perda mineral, apesar da película adquirida. Embora não impeça a perda de dureza, materiais bioativos estão emergindo como uma estratégia de suporte promissora, minimizando a degradação da superfície por meio de possível modificação da estrutura cristalina, particularmente em condições de erosão relacionadas ao refluxo gastroesofágico.

1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios gastroesofágicos e a presença de pepsina na cavidade oral têm sido amplamente associados à erosão dentária, uma condição não-cariosa e multifatorial relacionada a perda de estrutura dental (Chatzidimitriou et al., 2023). A erosão dentária pode ocorrer em resultado da ação de ácidos extrínsecos (dieta e fatores comportamentais) (Kanzow et al., 2016) e/ou de ácidos intrínsecos, como aqueles provenientes do refluxo gastroesofágico (RGE), uma condição associada à Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) (Ranjitkar et al., 2012). Este distúrbio afeta milhões de pessoas em todo o mundo (Nirwan et al., 2020), e evidências epidemiológicas demonstram uma prevalência elevada de erosão dentária entre pacientes com DRGE, chegando a 98,1% em adultos (Ortiz et al., 2021) e 52% em crianças (Lechien et al., 2020). Clinicamente, tem sido observado que pacientes com DRGE, tem uma probabilidade 3,3 vezes maior de desenvolver erosão dentária em comparação àqueles sem a doença (Picos et al., 2018).

Além do efeito do ácido gástrico, a pepsina, uma enzima proteolítica presente no suco gástrico, tem sido identificada como um potencial biomarcador de DRGE quando detectada em áreas como garganta e boca (Wang et al., 2020; Yadlapati et al., 2021). Achados recentes indicaram que pacientes com DRGE e erosão dentária possuíam níveis significativamente mais altos de pepsina salivar do que indivíduos saudáveis (Rajab & Zaidan, 2023). Contudo, poucos são os estudos a respeito do impacto direto da pepsina no esmalte, ou seja, no processo inicial da erosão dentária. Até o momento, uma discreta evidência demonstra indício da influência da pepsina no esmalte dental (Faraoni et al., 2020). No entanto, apenas avaliações de perfilometria foram realizadas, um teste menos indicado para avaliar lesões erosivas iniciais (precoce) (Schlueter et al., 2011). Dada a crescente prevalência de erosão dentária e os potenciais efeitos erosivos da pepsina, é essencial que estudos elucidem a influência dessa enzima dentro da dinâmica erosiva nas fases iniciais do desgaste dentário.

Como a perda de tecido duro causada pela erosão dentária é irreversível e seu tratamento pode ser complexo, medidas preventivas devem ser tomadas nos estágios iniciais da doença (Chawhuaveang et al., 2024). Nesse contexto, o uso de biomateriais, especialmente aqueles empregados na prevenção e reposição do conteúdo mineral (cálcio e fosfato) perdido pelo desgaste dentário erosivo, como o fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-

ACP) e os biovidros (BAGs), vêm ganhando grande ênfase (Iftikhar et al., 2021; Yoshiyasu *et al.*, 2022).

Com o avanço nas pesquisas de materiais bioativos, têm sido introduzidos no comércio materiais odontológicos preventivos e restauradores que apresentam a tecnologia GIOMER, ou seja, possuem em sua composição partículas de ionômero de vidro pré-reagido (S-PRG), resultado da reação do ácido-base entre o vidro de flúor-boro-alumino-silicato e o ácido poliacrílico (Fujimoto et al., 2010). Estudos indicam que os materiais com estas partículas podem reduzir a desmineralização dental, promovendo a nucleação da apatita, além de apresentar propriedades de tamponamento e melhoria da resistência do substrato dental à ação de ácidos (Fujimoto et al., 2010; Saku et al., 2010; Yoshiyasu et al., 2022). O modo de ação destes materiais consiste na liberação de seis tipos de íons como F^- , Na^+ , Sr^{2+} , Al^{3+} , BO_3^{3-} , SiO_3^{2-} (Fujimoto et al., 2010; Ikemura et al., 2003; Inoue et al., 2022; Saku et al., 2010; Yoshiyasu et al., 2022). Quando em contato com fluidos biológicos, estas partículas iniciam a formação de uma camada de hidroxicarbonato apatita e a liberação dos íons para a estrutura dentária e o ambiente oral, promovendo remineralização e auxiliando na redução do pH oral (Murayama et al., 2018). Embora estudos evidenciem seu efeito contra desmineralização, especialmente a causada pela cárie (Amaechi et al., 2017, 2018; Inoue et al., 2022; Itota et al., 2004; Kawasaki & Kambara, 2014; Spinola et al., 2020; Yoshiyasu et al., 2022), o efeito protetor das partículas de S-PRG contra erosão dentária ainda não foi bem elucidado. Assim, a influência do uso de produtos preventivos, tais como o gel PRG Pro-Care Gel® (SHOFU), contendo 5 wt% de partículas S-PRG, merece investigações.

Diante da escassez de estudos sobre a interação entre o esmalte dentário e a ação de ácidos associados à pepsina, bem como os efeitos das partículas de S-PRG na erosão dentária, faz-se necessário compreender os efeitos físico-químicos envolvidos neste processo. Portanto, este estudo *in vitro* teve como objetivo investigar a influência da pepsina na erosão do esmalte dentário com película adquirida, bem como avaliar o efeito de um gel contendo partículas de S-PRG na prevenção da erosão dentária. As hipóteses nulas levantadas são: (I) a pepsina associada ao ácido intrínseco durante ciclos erosivos não influencia na perda de microdureza superficial do esmalte dentário com película adquirida, (II) o gel contendo partículas de S-PRG não protege a perda de microdureza superficial do esmalte exposto a ciclos erosivos associados ou não a pepsina.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Desenho do estudo

Este estudo *in vitro*, randomizado e controlado, utilizou blocos de esmalte bovino para investigar a perda de microdureza superficial (%SHL) e as alterações na morfologia, no conteúdo mineral e na estrutura dos cristais de hidroxiapatita do esmalte dental, após exposição a desafios erosivos associados à pepsina. Aliado a isto, a influência do gel bioativo contendo partículas de S-PRG também foi investigado. O estudo seguiu um delineamento fatorial 2 x 2, com os seguintes fatores experimentais: modelo erosivo (HCl e HCl associado a pepsina) e 2 níveis [tratamento preventivo (S-PRG) e água deionizada (controle)] (Fig. 1). A variável resposta foi a perda de microdureza superficial (%SHL), calculada a partir mensuração da microdureza antes e após a exposição aos desafios erosivos e tratamentos, gerando o resultado primário do estudo.

As características morfológicas, microquímicas e cristalográficas da superfície do esmalte dental foram avaliadas antes e após os desafios erosivos.

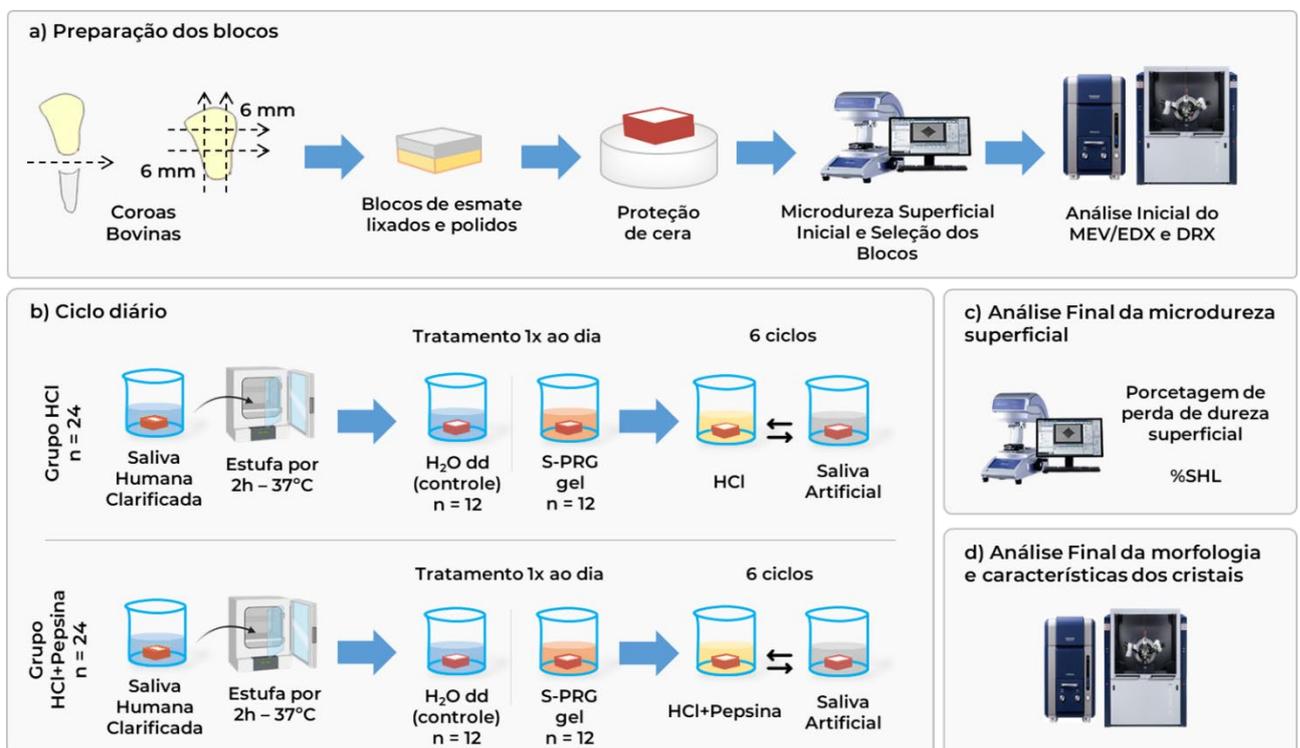


Fig. 1 – Desenho esquemático do preparo, ciclo diário e realização dos testes.

2.2 Cálculo Amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no software R (versão 4.3.3, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria). Como não existem estudos prévios sobre a influência da pepsina na perda de microdureza superficial do esmalte dental, adotamos, com base em nosso estudo piloto, o teste ANOVA com tamanho de efeito (η^2) de 0,6, nível de significância de 0,05, poder estatístico de 0,8 e uma taxa de perda de 20%.

O tamanho total da amostra calculado foi de 48 blocos, distribuídos em 4 grupos experimentais ($n = 12$), a fim de garantir um poder estatístico adequado para a análise da perda de microdureza superficial.

2.1 Preparo dos blocos de esmalte

Blocos de esmalte foram obtidos a partir de 150 incisivos bovinos livres de cáries e trincas estes foram desinfetados e armazenados em água deionizada. Os blocos foram seccionados (6 x 6 x 2 mm) a partir do terço médio da superfície vestibular da coroa, utilizando disco diamantado (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) em uma máquina de corte resfriada (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). Cada bloco foi lixado sequencialmente com folhas de óxido de alumínio de granulações 800, 1200, 2500 e 4000 acoplados em uma politriz metalográfica (AROPOL, Arotec S.A. Indústria e Comércio, Brasil). As amostras foram polidas também na politriz com disco de feltro e suspensão diamantada de 9 μm , 6 μm (MetaDi™ Supreme Polycrystalline Diamond Suspension, Buehler, Illinois, EUA) e suspensão de sílica básica de 0.06 μm (MasterMet™2 Non-Crystallizing Colloidal Silica Polishing Suspension, Buehler, Illinois, EUA). As amostras foram lavadas em uma cuba ultrassônica (Banho Ultrassom 03350, Quimis®, São Paulo, Brasil) e armazenadas em água deionizada, sob refrigeração até o início do experimento.

Para padronização e alocação das amostras, foi realizada a mensuração da microdureza superficial inicial (SH_{baseline}) do esmalte dental preparado. Os valores de SH_{baseline} foram determinados a partir da média de três endentações com 100 μm de distância entre elas, utilizando um indentador Knoop com carga de 50g por 5s (Fernández et al., 2022) (Microdurômetro HMV-G20, Shimadzu Corporation, Tóquio, Japão). Blocos de esmalte apresentando uma microdureza média de $274,2 \pm 0,2 \text{ kg/mm}^2$ foram selecionados e alocados.

A partir da obtenção da SH_{baseline}, um total de 48 blocos de esmalte foram alocados randomicamente nos grupos experimentais usando uma lista gerada no software R (versão 4.3.3, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria).

2.2 Coleta da saliva e Formação da Película Adquirida

Para utilização de saliva humana, este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa local e aprovado sob parecer nº 6.480.083. Diariamente, durante 9 dias, foram coletados 72 ml de saliva de um voluntário jovem adulto saudável, sem diagnóstico de DRGE, lesões cariosas ativas, erosão ou disfunção salivar. O voluntário foi orientado a não fumar, comer, beber ou escovar os dentes com dentifrícios fluoretados há pelo menos 8 horas antes da coleta (Hellwig et al., 2013; Passos et al., 2018). A saliva foi estimulada pela mastigação de pedaços de parafina (Parafilm®, Sigma-Aldrich, Seelze, Alemanha) por 5 minutos e depositadas em frascos refrigerados (Carvalho et al., 2016).

Posteriormente, a saliva foi reunida e centrifugada por 10 min a 2.000 rpm, sob temperatura de 4 °C (Passos et al., 2018), e o fluído claro sobrenadante coletado. O pH da saliva foi então mensurado utilizando um pHmetro calibrado (Orion 2-Star, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), apresentando um pH de 7,1. Cada amostra foi imersa em 1,5 ml de saliva por 2h, todos os dias antes do início dos desafios erosivos, sob agitação de 200 rpm e temperatura de 37 °C, para simular a temperatura da cavidade oral (Carvalho et al., 2016).

2.3 Delineamento Experimental

Os blocos de esmalte preparados foram padronizados e randomizados em dois grupos experimentais (n = 24 cada): HCl – exposição ao modelo erosivo de HCl, e HCl+Pep – exposição modelo erosivo associado a pepsina. Para cada condição experimental, estes foram divididos em 2 subgrupos de acordo com o tratamento (n = 12 cada): SPRG (imersão em uma solução 1:1 de gel bioativo PRG Pro-Care Gel® (SHOFU Brasil, São Paulo, Brasil) e DW (imersão em água deionizada - controle negativo). Cada amostra foi imersa em 2 ml de cada solução correspondente, respeitando o ciclo experimental diário (Fig. 2). As áreas externas dos blocos foram isoladas com cera, mantendo apenas a face vestibular do esmalte exposta.

Previamente ao desafio erosivo, as amostras foram imersas diariamente em saliva humana clarificada por 2h para formação da película adquirida (Passos et al., 2018; Schlueter et al., 2010) e enxaguados por 30s em água deionizada para remoção do excesso de saliva.

Para simular o desgaste erosivo, foi empregado um modelo de ciclagem erosiva por 9 dias. Os ciclos diários consistiram em seis imersões consecutivas de 5 minutos em solução ácida, intercaladas com saliva artificial (1,5 mM Ca; 0,9 mM PO₄; 150 mM KCl e 100 mM tampão TRIS; pH 7,4) por 2 horas (Moda et al., 2019; Passos et al., 2018; Schlueter et al., 2010) (Tabela 1).

No grupo **HCl**, as amostras foram expostas exclusivamente a uma solução de ácido clorídrico (0,5g de NaCl para cada 100 ml de água destilada, ajustada para pH 2,0 com HCl 0.01 M) (Tabela 1). Já no grupo **HCl+Pep**, utilizou-se a mesma solução de HCl, com a adição de pepsina (750 µg/ml; P-6887, pepsina da mucosa gástrica suína, 3200 U/mg, Sigma-Aldrich, Seelze, Alemanha), também ajustada para pH 2,0 (Schlueter et al., 2010). Entre cada etapa, as amostras foram enxaguadas com água deionizada por 30 segundos. Ao final de cada dia experimental, as amostras permaneceram imersas em saliva artificial durante a noite, até o dia seguinte (Passos et al., 2018; Schlueter et al., 2010). As soluções foram renovadas diariamente e todos os procedimentos foram realizados sob agitação a 100 rpm e a 37 °C (Passos et al., 2018).

No subgrupos **SPRG**, para analisar o efeito protetor do gel bioativo, as amostras foram imersas diariamente por 2 min (Amaechi et al., 2018; Vertuan et al., 2022), antes do primeiro ciclo erosivo, em solução aquosa do gel bioativo (pH = 6,4), composta em proporção 1:1 de água deionizada e do gel PRG Pro-Care Gel® (sílica hidratada, 5% em peso de partículas de S-PRG, glicerol, carboximetilcelulose sódica, sorbitol, dodecil sulfato de sódio, aroma de menta) (Asano et al., 2014; Imazato et al., 2023; Ito et al., 2011). Este protocolo de imersão foi utilizado para isolar e avaliar os efeitos iônicos dos materiais no esmalte, excluindo intencionalmente a abrasão por escovação para evitar interferências do desgaste mecânico (Jiemkim et al., 2023).

No subgrupo **DW** (controle), as amostras foram imersas em água deionizada durante o mesmo período, sem aplicação de qualquer outra substância bioativa.



Fig. 2 – Esquema do ciclo experimental diário.

2.4 Avaliação da Perda de Microdureza Superficial

Após os nove dias experimentais, foram realizadas novas mensurações da microdureza superficial (SH_{final}) do esmalte dental, respeitando as mesmas especificações descritas previamente. A porcentagem de perda de microdureza superficial (%SHL) foi determinada utilizando a fórmula matemática descrita na literatura (Chawhuaveang et al., 2024; Fernández et al., 2022; Passos et al., 2018):

$$\%SHL = (SH_{baseline} - SH_{final}) / SH_{baseline} \times 100.$$

2.5 Avaliação morfológica e composição microquímica superficial do esmalte e do gel bioativo

Micrografias da superfície do esmalte e do gel contendo partículas de S-PRG foram obtidas. Três blocos de esmalte de cada grupo experimental foram selecionados aleatoriamente e montados em *stubs* de alumínio, com auxílio de fita adesiva de carbono (Koch, Instrum Cient, São Paulo - SP, BR), para avaliação qualitativa da morfologia da superfície, utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) de bancada, em baixo vácuo (Hitachi TM 3030,

Japão). A captação das imagens foi realizada por meio de um software específico acoplado ao MEV, permitindo a obtenção das fotomicrografias com aumento na ampliação de x1200.

Para a avaliação do gel contendo partículas de S-PRG, foram preparadas 2 amostras de 1 mm de espessura, depositando uniformemente o gel seco sobre uma fita de carbono fixada em *stubs* de alumínio. Em seguida, utilizou-se ar comprimido para remover eventuais partículas soltas que pudessem contaminar a câmara do microscópio. Fotomicrografias do gel foram capturadas com ampliações de x1000.

A avaliação microquímica do S-PRG gel e da superfície do esmalte de cada bloco selecionado foi determinada, em porcentagem de peso (*wt%*), por meio da Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS).

2.6 Avaliação por difração de raio-X (DRX)

Dois blocos de esmalte de cada grupo foram aleatoriamente selecionados para avaliação das características dos cristais de hidroxiapatita, antes e após o tratamento experimental. As alterações na estrutura dos policristais minerais nas superfícies dos blocos foram analisadas por difração de raios X (DRX) em policristais, usando um difratômetro (D8 Advance, Bruker AXS, Karlsruhe, Alemanha) com radiação CuK α (40kV, 40mA, $\lambda=1.5406\text{\AA}$) e um detector linear LynxEye (Cardoso et al., 2022). Os dados foram coletados em um intervalo 2θ de 20–60°, em tamanho de passo 0,02° e tempo de contagem de 0,4 s/passos.

2.7 Análise Estatística

Todos os dados foram inicialmente avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variâncias por meio do teste de Levene. Para os dados de %SHL, utilizou-se o teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) *one way*, seguido de teste *pos-hoc* de Tukey. A análise de difração de raios X (DRX) e a avaliação morfológica e microquímica da superfície por MEV/EDS foram realizadas de forma qualitativa. As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS Statistics 23.0 (IBM Corp, Chicago, IL, EUA), com um nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS

3.1 Porcentagem de perda de microdureza superficial (%SHL)

A média \pm desvio padrão da %SHL do esmalte, nos diferentes grupos experimentais está representada na Figura 3. A média de microdureza inicial do esmalte foi padronizada em $274,2 \pm 0,2 \text{ kg/mm}^2$, para todos os grupos experimentais.

A análise comparativa revela que o modelo erosivo com pepsina, independente do tratamento realizado (HCl+Pep/DW e HCl+Pep/SPRG) promoveu uma perda de microdureza superficial significativamente maior do que os grupos expostos apenas a HCl ($p < 0,001$).

Já o tratamento com gel bioativo (SPRG) não promoveu alteração significativa quando comparado ao grupo controle (DW), independente do modelo erosivo estudado ($p > 0,05$) (Fig. 3).

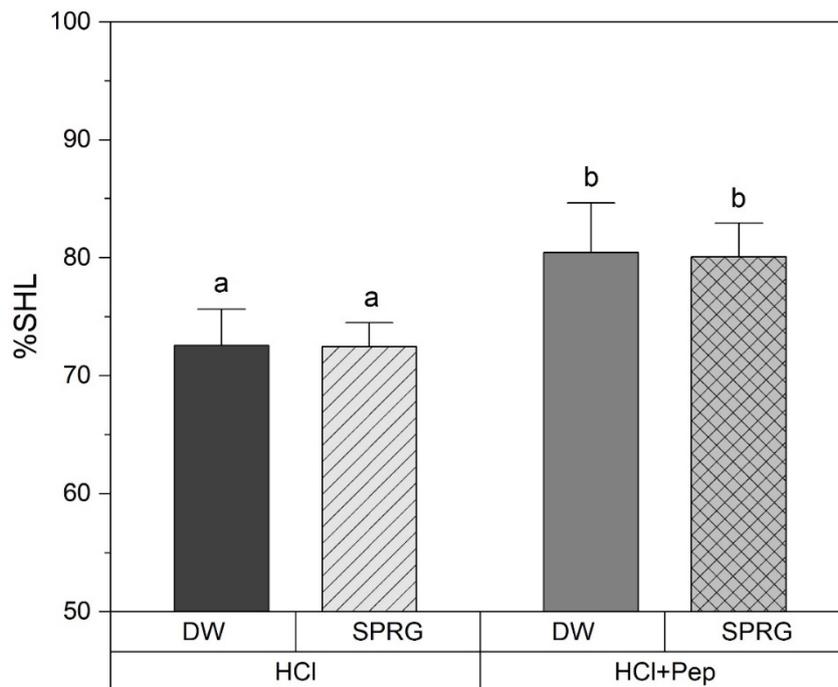


Fig. 3 – Análise comparativa da porcentagem de perda de microdureza superficial entre os grupos experimentais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p < 0,05$).

3.2 Morfologia superficial e composição microquímica (Análises de MEV/EDS)

A morfologia superficial e a composição elementar analisadas por MEV/EDS na superfície do esmalte antes (Fig. 4) e após o tratamento (Fig. 6) revelaram diferenças estruturais significativas. Inicialmente, as superfícies de esmalte apresentavam uma estrutura lisa e homogênea, conforme mostrado na Figura 4, com espectros de EDS exibindo picos característicos de elementos de hidroxiapatita.

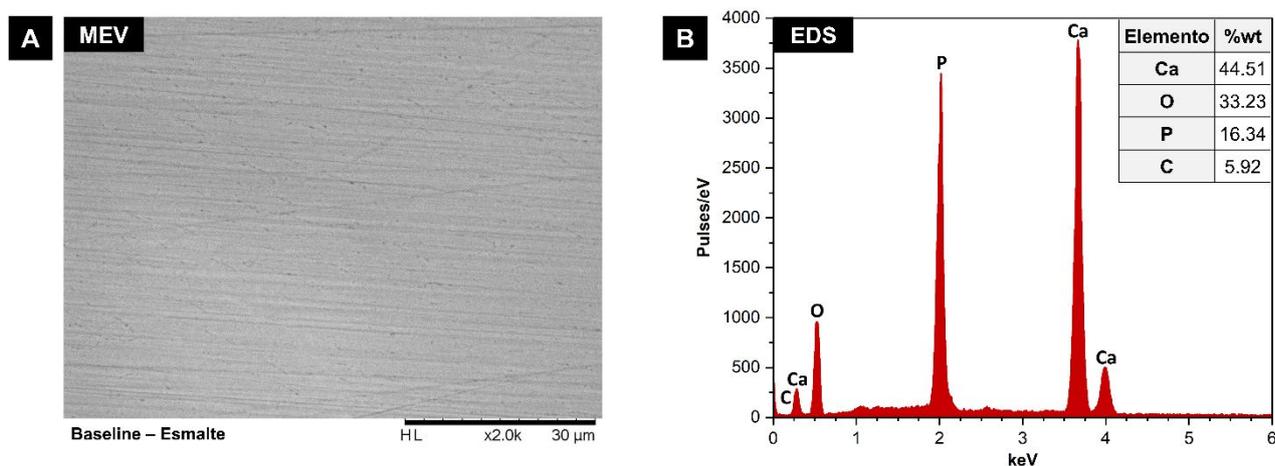


Fig. 4 – Imagens representativas de MEV da morfologia da superfície do esmalte hígido com análise microquímica por EDX.

A análise da microestrutura do gel (Fig. 5) contendo S-PRG demonstraram partículas tridimensionais irregulares com formatos e tamanhos variados ($< 1 \mu\text{m}$ e $> 10 \mu\text{m}$). A respectiva análise de composição química por EDS, demonstrou que o gel apresentou altas concentrações de oxigênio, carbono e silício, com menores concentrações de boro, sódio, alumínio, flúor e estrôncio, conforme previamente indicado pelo fabricante.

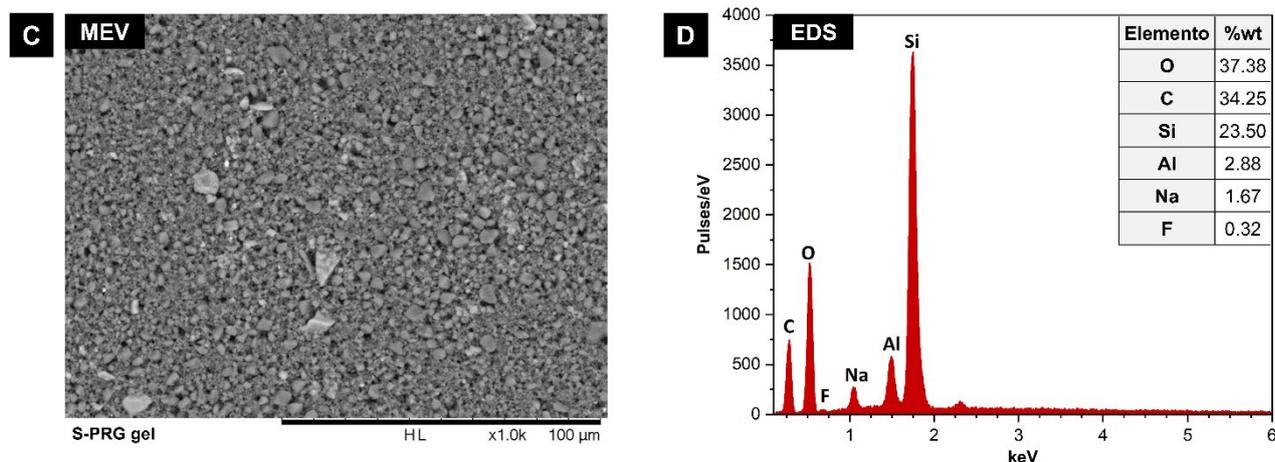


Fig. 5 – Imagens representativas de MEV da morfologia da superfície do gel contendo partículas de S-PRG com análise microquímica por EDX.

As imagens de MEV do esmalte dentário exposto ao modelo erosivo por 9 dias (Fig. 6), demonstraram padrão de dissolução dos prismas de esmalte característico a aparência de “favo de mel” (Liu et al., 2024). Os grupos HCl/DW, HCl+Pep/DW e HCl+Pep/SPRG tiveram maior desgaste erosivo nas regiões interprismáticas do esmalte (Fig. 6A, 6B e 6D), enquanto o grupo HCl/SPRG exibiu maiores áreas de preservação dos prismas de esmalte (Fig. 6C). Além disso, HCl+Pep/DW apresentou uma maior extensão de degradação das estruturas prismáticas, resultando em áreas de esmalte sem organização típica dos primas de hidroxiapatita (Fig. 6B).

A análise por EDS revelou um padrão consistente nos teores de cálcio e fósforo entre todos os grupos experimentais. Nos grupos tratados com o gel contendo S-PRG, observou-se a incorporação de elementos químicos nos blocos de esmalte, dispostos em ordem decrescente de quantidade: oxigênio, cálcio, fósforo e carbono em concentrações significativas, seguidos por flúor, alumínio e sódio em menores concentrações.

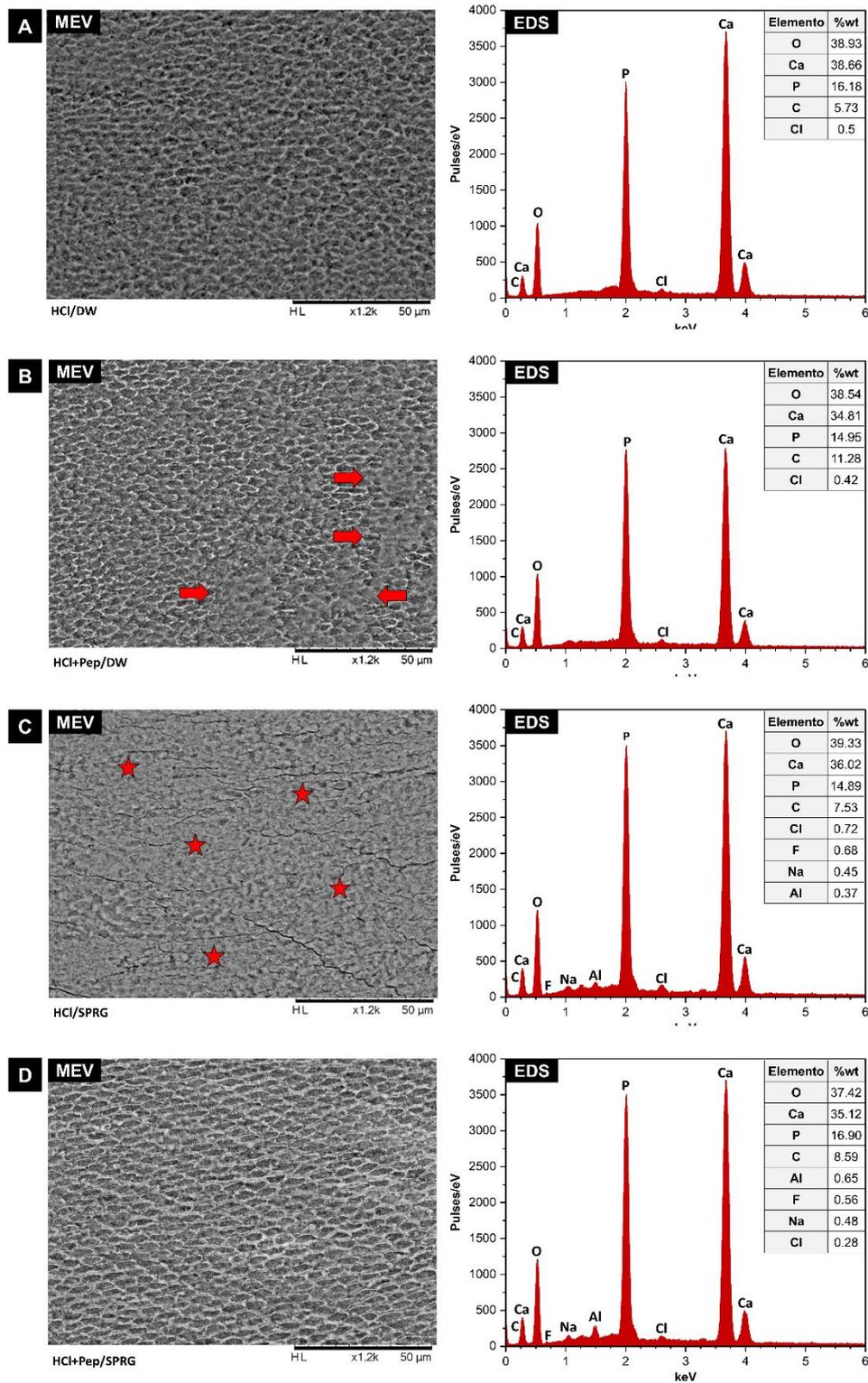


Fig. 6 – Imagens representativas de MEV da morfologia da superfície (1.200×) e análise elemental por EDX dos grupos experimentais: (A) HCl/DW, (B) HCl + Pep/DW, (C) HCl/SPRG e (D) HCl + Pep/SPRG. As setas (→) indicam áreas de esmalte sem organização cristalina regular. Estrelas (★) destacam áreas mais preservadas.

3.3 Análise por Difração de Raios-X

Na análise de DRX do esmalte do dente (Fig. 7A), observam-se a presença apenas dos picos característicos da hidroxiapatita (HAp – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ICDD #01-072-1243). Contudo, os picos (0 0 2) e (0 0 4) apresentam intensidade bem elevadas, demonstrando uma direção preferencial para a orientação dos cristallitos da hidroxiapatita da direção [0 0 1]. Já para o DRX do gel contendo partículas de S-PRG (Fig. 7B), observa-se a presença de picos bem definidos em $2,42^\circ$, $4,72^\circ$ e $7,11^\circ$ de 2θ , atribuídos ao Dodecil Sulfato de Sódio ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$, ICDD #00-036-1704) e Aluminossilicato de Cálcio e Sódio ($\text{Ca}_4\text{Na}_4\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48}$, ICDD #01-072-0083), indicando a presença de fases cristalinas desses compostos. Além disso, é notável uma ampla região caracterizada por uma banda difusa, associada à fração amorfa do material.

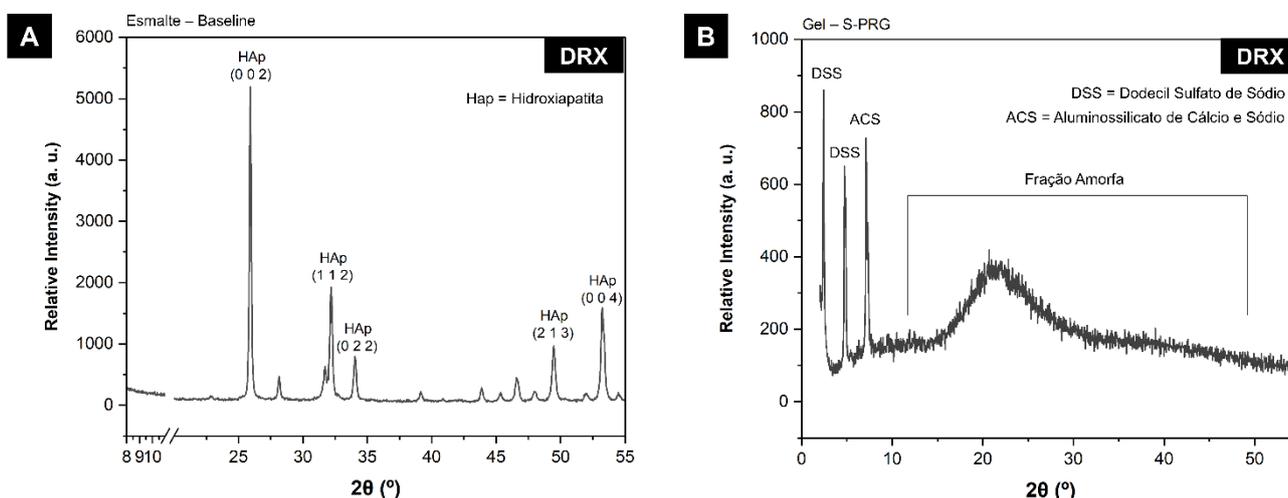


Fig. 7 – Padrões típicos de difração de raios X das amostras de esmalte iniciais (A) e do gel contendo partículas de S-PRG (B).

Os difratogramas de raios X dos blocos de esmalte dos grupos experimentais são apresentados na Fig. 8. Em todos os grupos, observou-se a presença predominante da fase hexagonal da HAp, com picos característicos entre 20° e 55° de 2θ . No grupo HCl/DW (Fig. 8A) e HCl+Pep/DW (Fig. 8B), houve uma redução significativa na intensidade dos picos correspondentes aos planos (0 0 2) e (0 0 4), e um aumento nas reflexões associadas aos planos (1 1 2), (0 2 2) e (2 1 3) após os desafios erosivos, indicando alterações na microestrutura

crystalina da HAp, ou seja, houve redução da área total dos cristalitos orientados na família de planos $\{001\}$.

Nos grupos tratados com o gel contendo partículas S-PRG (Fig. 8C e 8D), observou-se alterações nas reflexões associadas à HAp. No grupo HCl/SPRG foram identificadas novas fases cristalinas que não estavam presentes no baseline (Fig. 8C). Picos adicionais foram detectados em $9,54^\circ$, $21,15^\circ$, $21,49^\circ$, $23,48^\circ$ e $28,71^\circ$ de 2θ , correspondentes às fases de Fosfato de Alumínio do sistema cristalino ortorrômbico (A – AlPO_4 [ort], PDF #01-078-2443), Fosfato de Alumínio do sistema cristalino cúbico (B – AlPO_4 [cub], PDF #00-031-0028) e Fosfato Octacálcico (OCP – $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, PDF #00-026-1056). No grupo HCl+Pep/SPRG (Fig. 8D), foi identificada apenas uma fase de Fosfato de Alumínio de estrutura cristalina ortorrômbica.

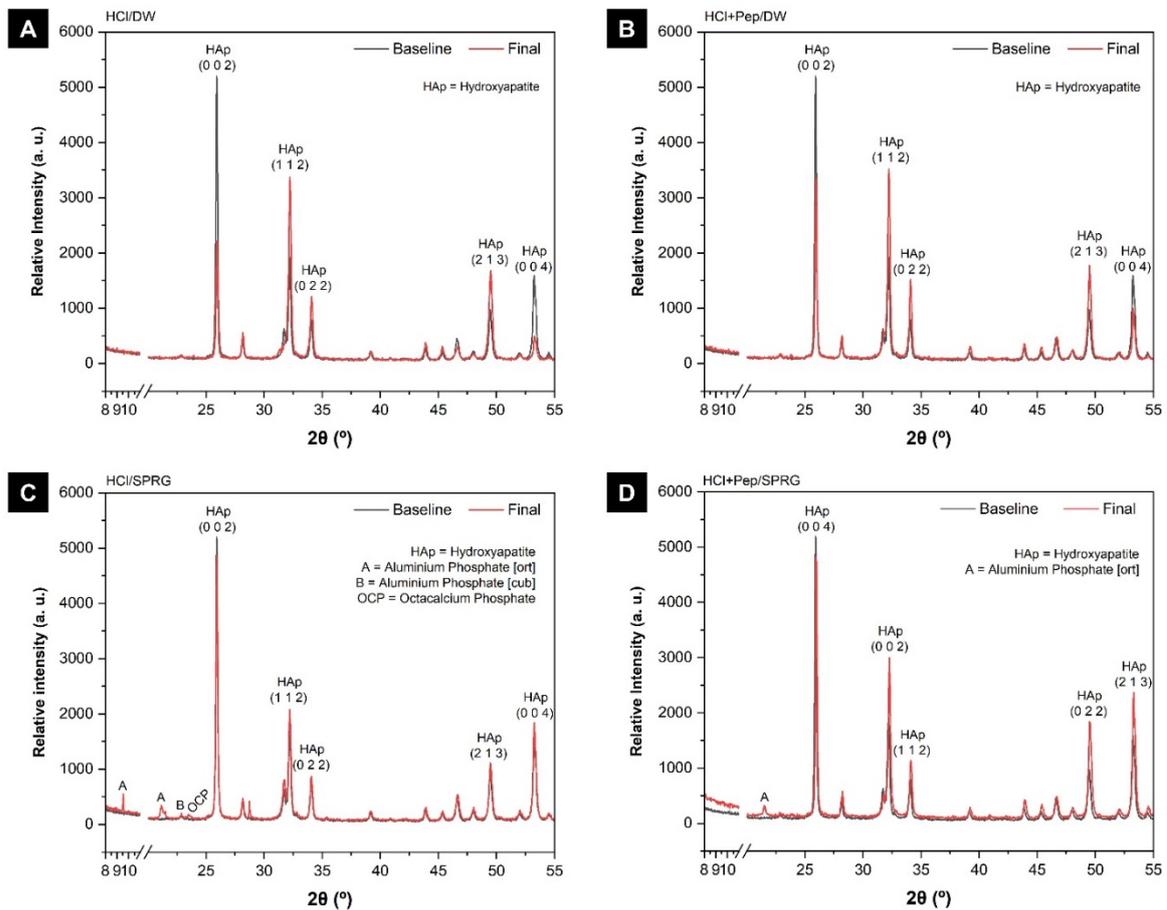


Fig. 8 – Padrões típicos de difração de raios X das amostras de esmalte antes (baseline [linha preta]) e depois dos desafios erosivos (final [linha vermelha]) dos grupos experimentais: (A) HCl/DW, (B) HCl + Pep/DW, (C) HCl/SPRG e (D) HCl + Pep/SPRG.

4 DISCUSSÃO

A erosão dentária associada à DRGE é uma preocupação crescente devido ao seu potencial de degradação irreversível do esmalte. Este estudo *in vitro* investigou os efeitos do HCl e da pepsina na erosão do esmalte e avaliou o potencial protetor de um gel bioativo contendo partículas de S-PRG. A primeira hipótese, que sugere que a pepsina não influencia na erosão do esmalte, foi rejeitada, uma vez que a combinação de pepsina com HCl resultou em uma perda de microdureza superficial significativamente maior do que apenas o ácido clorídrico. Por outro lado, a segunda hipótese nula testada não foi rejeitada, pois não foi observada diferença significativa na perda de microdureza entre os grupos tratados com o gel bioativo ou água destilada (controle), independentemente da presença de pepsina na solução erosiva.

Nos estudos *in vitro*, os modelos erosivos variam consideravelmente na literatura, principalmente quanto às substâncias utilizadas, como ácido cítrico (Abbassy et al., 2022; Chawhuaveang et al., 2024), ácido clorídrico (HCl) (Moda et al., 2019; Passos et al., 2018) e utilização de sucos ácidos e refrigerantes (de Souza et al., 2020; Surarit et al., 2023), visando replicar as condições da dieta moderna. O modelo de erosão com HCl simula o refluxo gastroesofágico (DRGE), onde o ácido gástrico expõe o esmalte dental a pH abaixo de 5,5 por cerca de 4,3 minutos ao longo de 24 horas (Bartlett et al., 1996). Neste estudo, utilizou-se ácido clorídrico a pH 2,0, com imersões diárias das amostras em 6 ciclos de 5 minutos por 9 dias (Moda et al., 2019; Schlueter et al., 2010; Schlueter, Glatzki, et al., 2012a), o que equivale a uma exposição simulada de aproximadamente 54 dias ao ambiente intraoral (Wegehaupt et al., 2012). Aliado a isto, a pepsina é uma enzima digestiva responsável pela degradação de proteínas no estômago, está presente no refluxo gastroesofágico (Rajab & Zaidan, 2023; Yadlapati et al., 2021). Embora haja escassez de estudos sobre a influência da pepsina nas erosões dentárias do esmalte, pesquisas anteriores sugerem que essa enzima pode afetar negativamente a dentina (Moda et al., 2019; Schlueter et al., 2010; Schlueter, Glatzki, et al., 2012b, 2012a). Nos tecido dentinários, Schlueter et al. (2010) concluíram que a pepsina foi capaz degradar parcialmente a matriz orgânica, e que a combinação de pepsina e tripsina pode aumentar a perda mineral da dentina. Além disso, a pepsina parece diminuir a eficácia do flúor (Schlueter et al., 2007; Schlueter, Glatzki, et al., 2012b). Um diferencial do presente estudo foi o uso da película adquirida do esmalte, uma camada rica em proteínas formada por íons de saliva que serve como

barreira protetora contra a erosão ácida (Carvalho et al., 2020; Vukosavljevic et al., 2014). Ao aplicar a película antes de cada ciclo erosivo, o modelo experimental aproximou-se às condições clínicas.

Quando avaliado o esmalte hígido em relação à exposição ao modelo erosivo empregado neste estudo, verificou-se uma significativa redução na microdureza e alteração da composição microquímica avaliados por EDS e padrões cristalinos verificados por DRX. Esses resultados são consistentes com outros estudos, nos quais a exposição ao ácido clorídrico causou degradação cíclica do esmalte e dissolução linear de cálcio e fosfato (Derceli et al., 2020; Shellis et al., 2010), tal como observado em nosso estudo. A análise por MEV em todos os grupos revelou um padrão de desgaste com aspecto de “favo de mel”, característico do padrão tipo I de Silversrone, definido como a dissolução dos núcleos dos prismas de esmalte e preservação dos minerais nas regiões periféricas (Silversrone et al., 1975).

Os resultados do presente estudo revelam que uma maior perda de microdureza superficial do esmalte foi observada quando a pepsina estava associada ao modelo erosivo (solução de HCl). Esses dados contrastam dos resultados de Faraoni et al. (2020) que não observaram diferença estatisticamente significativa na perda de superfície entre HCl e HCl associado à pepsina. As diferenças metodológicas entre os estudos, como o tipo de análise utilizada, podem explicar os resultados contrastantes. Enquanto Faraoni et al. (2020) avaliaram a superfície do esmalte dentário por meio da perfilometria, nosso estudo empregou o ensaio de microdureza, capaz de detectar mudanças mais sutis, o que indiretamente indica a perda mineral da estrutura do esmalte, especialmente em casos de erosões iniciais (Barbour & Rees, 2004; Schlueter et al., 2011). Inicialmente, o processo erosivo envolve a dissolução do esmalte, levando ao amolecimento da superfície devido ao enfraquecimento de sua estrutura (Barbour & Rees, 2004). O aumento da perda de microdureza associada à exposição à pepsina simula com maior precisão a condição clínica do DRGE, onde o conteúdo gástrico alcança, em episódios frequentes, a cavidade oral. Estudos indicam que o DRGE pode levar à degradação mais severa do esmalte dental (Chakraborty & Anjankar, 2022; Ortiz et al., 2021).

Outra possível explicação para essa discrepância é a ausência de formação de película adquirida no protocolo experimental de Faraoni et al. (2020), pois sem a proteção do esmalte por esta película, ambas as soluções poderiam erodir a superfície dentária de forma semelhante. Em nosso estudo, a pepsina provavelmente intensificou a erosão ao degradar a película

adquirida por meio de atividade proteolítica (Schlueter, Ganss, et al., 2012; Vukosavljevic et al., 2014). Esse efeito foi particularmente evidente nas imagens de MEV dos grupos expostos a HCl + Pepsina, onde a perda de microdureza foi mais pronunciada, além de perda da organização cristalina.

A análise de difração de raios-X (DRX) permitiu o entendimento do comportamento microestrutural dos cristais de hidroxiapatita (HAp), revelando mudanças na microestrutura cristalina do esmalte após os ciclos erosivos com HCl e HCl + Pepsina. Observou-se uma redução na intensidade dos picos da HAp nos planos (0 0 2) e (0 0 4) nos grupos expostos à pepsina, sem indícios de recristalização significativa de novas fases minerais. Esses resultados são consistentes com os achados de Sabel et al. (2019), que relataram que as alterações nas reflexões dos difratogramas são atribuídas à ação do ácido, que promove o desgaste da superfície do esmalte. Na análise qualitativa dos elementos da superfície do esmalte por EDS, o grupo HCl+Pep/DW apresentou maiores perdas de cálcio (Ca) e fósforo (P), comparado ao grupo HCL/DW. Além disso, as imagens microscópicas de MEV revelaram áreas de intensa dissolução das estruturas prismáticas, característico do padrão tipo III de Silversrone, relacionado a um padrão mais aleatório de dissolução, afetando tanto o núcleo quanto as regiões periféricas dos primas (Silversrone et al., 1975). Esses achados confirmam a influência da pepsina na aceleração da degradação do esmalte dentário.

No presente estudo, embora o gel contendo partículas de S-PRG tenha preservado determinadas áreas do esmalte, conforme observado pelo MEV, ele não impediu a perda de microdureza sob as condições experimentais aplicadas. Na análise qualitativa dos elementos da superfície do esmalte por EDX, apesar da incorporação de íons do gel de S-PRG, o gel bioativo não conseguiu preservar ou atenuar as alterações nos níveis de Ca e P. Diversos estudos relatam a eficácia S-PRG em contextos de desmineralização dentária, especialmente na prevenção de cáries (Amaechi et al., 2017, 2018; Itota et al., 2004; Kawasaki & Kambara, 2014), mas sua aplicação para erosão ainda não foi investigada. Este resultado difere de outros estudos que investigaram o uso do S-PRG em modelos de cárie (Amaechi et al., 2018; Yoshiyasu et al., 2022), nos quais o material mostrou maior eficácia em proteger o esmalte contra a desmineralização. Estudos anteriores demonstram que o S-PRG libera íons importantes como flúor (Itota et al., 2004; Shimazu et al., 2011), alumínio, borato, estrôncio, sódio e silicato (Fujimoto et al., 2010), cada um com funções específicas que, em conjunto, podem exibir um

efeito sinérgico contra a desmineralização (Yoshiyasu et al., 2022). Amaechi et al. (2018) observaram que a concentração de 5% em peso, equivalente à do PRG Pro-Care Gel® utilizada neste estudo, aplicada duas vezes ao dia por 2 minutos, foi considerada ideal para cremes dentais, sem diferenças significativas em relação a concentrações mais altas (20% e 30% em peso) na prevenção de cárie (Amaechi et al., 2018). Apesar dos diferentes desfechos, esses resultados divergem dos encontrados neste estudo, em que, sob condições erosivas severas, com aplicação do gel uma vez ao dia por 2 minutos ao longo de 9 dias, o efeito preventivo do S-PRG não foi significativo. Essa discrepância pode ser explicada pela ação mais agressiva da solução de ácido clorídrico (pH = 2,0) utilizada neste estudo, em contraste com soluções menos ácidas empregadas em modelos cariogênicos, o que pode ter diminuído o efeito preventivo desse produto. Além disso, um ácido forte dissolve e remove a superfície mineral mais rapidamente do que ácidos mais fracos (Passos et al., 2018). Uma concentração mais alta de S-PRG pode oferecer melhor proteção contra a erosão induzida por ácido; no entanto, são necessários mais estudos para determinar as formulações ideais para a prevenção da erosão.

Nos grupos tratados com o gel de S-PRG, observou-se uma redução na intensidade dos picos da hidroxiapatita (HAp) apenas nos planos (0 0 2), com aumento da reflexão nos demais planos. Embora tenha ocorrido essa redução, as intensidades de reflexão nos grupos tratados com S-PRG mostraram-se mais próximas às do esmalte hígido. Além disso, no grupo HCl/SPRG, novas fases cristalinas, como o OCP, foram detectadas. O OCP é proposto como precursor da apatita em vários processos de mineralização biológica, incluindo a formação do osso e do esmalte dentário, devido à sua semelhança com o HAp (Enax et al., 2024; Kovrlija et al., 2021). Estudos demonstraram que o OCP pode se converter em HAp em condições fisiológicas, facilitando a remineralização do esmalte (Bodier-Houllé et al., 1998; Kovrlija et al., 2021). Essa transformação ocorre porque o OCP tem uma estrutura cristalina que promove a nucleação e o crescimento de HAp (Bodier-Houllé et al., 1998), o que pode aumentar a resistência ao desgaste erosivo. Embora este estudo não tenha avaliado diretamente a conversão de OCP em HAp, pesquisas anteriores sugerem que esse processo pode ocorrer (Enax et al., 2024; Kovrlija et al., 2021). Essas descobertas apoiam a hipótese de que o tratamento com gel de S-PRG pode contribuir para a preservação do esmalte ao promover a precipitação de OCP. Entretanto, no grupo HCl + Pep/SPRG, não foram detectadas fases cristalinas de OCP, sugerindo que a pepsina pode afetar negativamente a eficácia do tratamento. Essa observação

está alinhada com os achados de Schlueter et al. (2007) e pode ser atribuída à degradação proteolítica da pepsina da película adquirida, uma camada protetora que serve como reservatório de íons para a remineralização (Fischer & Aparicio, 2021; Vukosavljevic et al., 2014). Esses resultados diferem dos observados no estudo de Suge & Matsuo (2020), no qual nenhuma alteração na cristalinidade dos cristais de HAp foi detectada. Embora a metodologia desse estudo não seja totalmente detalhada, é possível que as discrepâncias nos resultados estejam associadas a condições experimentais não descritas, como o tipo de modelo erosivo utilizado e a formação da película adquirida. Em geral, este estudo reforça a influência da pepsina na degradação da película adquirida e destacando as limitações do gel bioativo em termos de preservação microquímica.

Esse estudo *in vitro* permitiu uma avaliação controlada dos efeitos da pepsina e do gel S-PRG; no entanto, ele não leva em conta fatores clínicos críticos, como as forças mecânicas da escovação e da mastigação, a influência dos biofilmes orais e os aspectos comportamentais. Futuras investigações devem explorar diferentes concentrações e tempos de exposição ao S-PRG ou sua combinação com outros agentes antierosivos para aprimorar a proteção contra a erosão dentária. Além disso, estratégias para aumentar a resistência da película adquirida frente a enzimas proteolíticas e métodos para regular a atividade da pepsina em pacientes com DRGE devem ser investigados para melhorar a proteção dental em indivíduos mais suscetíveis à erosão.

5 CONCLUSÃO

Com base nas limitações deste estudo *in vitro*, conclui-se que ciclos erosivos associados à pepsina promovem maior diminuição da microdureza superficial do esmalte, maior degradação da morfologia superficial, alterações na microestrutura dos cristais de hidroxiapatita e diminuição das concentrações de cálcio e fósforo. A pepsina atua de forma sinérgica com o ácido clorídrico aumentando a perda de microdureza superficial por erosão e interfere na ação de agentes protetores. Além disso, apesar de a aplicação diária de um gel contendo partículas de S-PRG ter promovido a formação do OCP, verificado por DRX, e preservado áreas do esmalte, verificadas por MEV/EDS, o S-PRG não foi capaz de prevenir a perda da microdureza superficial do esmalte em condições erosivas severas.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pela CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (código de financiamento 001) e FAPEMA – Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão.

DECLARAÇÃO DE INTERESSE CONCORRENTE

Os autores declaram não ter interesses financeiros conflitantes ou relações pessoais que possam parecer influenciar o trabalho relatado neste artigo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os técnicos do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (PPGO – UFMA), Ivaldo Filho e Thais Pinto, pelo suporte na preparação das soluções químicas.

REFERÊNCIAS

- Abbassy, M. A., Masoud, A. I., Alsulaimani, F. F., & Bakry, A. S. (2022). Effect of citric acid erosion on enamel and dentin and possible protection by a novel bioactive borate adhesive system. *Journal of Dentistry*, 124, 104208. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2022.104208>
- Amaechi, B. T., Kasundra, H., Joshi, D., Abdollahi, A., Azees, P. A. A., & Okoye, L. O. (2018). Effectiveness of S-PRG Filler-Containing Toothpaste in Inhibiting Demineralization of Human Tooth Surface. *The Open Dentistry Journal*, 12(1), 811–819. <https://doi.org/10.2174/1874210601812010811>
- Amaechi, B. T., Key, M. C., Balu, S., Okoye, L. O., & Gakunga, P. T. (2017). Evaluation of the caries-preventive effect of toothpaste containing surface prereacted glass-ionomer filler. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 8(4), e12249. <https://doi.org/10.1111/JICD.12249>
- Asano, K., Kawamoto, R., Iino, M., Fruichi, T., Nojiri, K., Takamizawa, T., & Miyazaki, M. (2014). Effect of Pre-reacted Glass-ionomer Filler Extraction Solution on Demineralization of Bovine Enamel. *Operative Dentistry*, 39(2), 159–165. <https://doi.org/10.2341/13-034-L>
- Barbour, M. E., & Rees, J. S. (2004). The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *Journal of Dentistry*, 32(8), 591–602. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2004.05.001>
- Bartlett, D. W., Evans, D. F., Anggiansah, A., & Smith, B. G. N. (1996). A study of the association between gastro-oesophageal reflux and palatal dental erosion. *British Dental Journal* 1996 181:4, 181(4), 125–131. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4809187>

- Bodier-Houllé, P., Steuer, P., Voegel, J. C., & Cuisinier, F. J. G. (1998). First Experimental Evidence for Human Dentine Crystal Formation Involving Conversion of Octacalcium Phosphate to Hydroxyapatite. *Acta Crystallographica*, *54*(6), 1377–1381. <https://doi.org/10.1107/S09074444998005769>
- Cardoso, O. S., Meier, M. M., Carvalho, E. M., Ferreira, P. V. C., Gavini, G., Zago, P. M. W., Grazziotin-Soares, R., Menezes, A. S. de, Carvalho, C. N., & Bauer, J. (2022). Synthesis and characterization of experimental endodontic sealers containing bioactive glasses particles of NbG or 45S5. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *125*, 104971. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2021.104971>
- Carvalho, T. S., Araújo, T. T., Ventura, T. M. O., Dionizio, A., Câmara, J. V. F., Moraes, S. M., Pelá, V. T., Martini, T., Leme, J. C., Derbotolli, A. L. B., Grizzo, L. T., Crusca, E., Shibao, P. Y. T., Marchetto, R., Henrique-Silva, F., Pessan, J. P., & Buzalaf, M. A. R. (2020). Acquired pellicle protein-based engineering protects against erosive demineralization. *Journal of Dentistry*, *102*, 103478. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2020.103478>
- Carvalho, T. S., Baumann, T., & Lussi, A. (2016). In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion. *Clinical Oral Investigations*, *20*(8), 1973–1979. <https://doi.org/10.1007/S00784-015-1703-1/FIGURES/2>
- Chakraborty, A., & Anjankar, A. P. (2022). Association of Gastroesophageal Reflux Disease With Dental Erosion. *Cureus*, *14*(10). <https://doi.org/10.7759/CUREUS.30381>
- Chatzidimitriou, K., Papaioannou, W., Seremidi, K., Bougioukas, K., & Haidich, A. B. (2023). Prevalence and association of gastroesophageal reflux disease and dental erosion: An overview of reviews. *Journal of Dentistry*, *133*, 104520. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2023.104520>
- Chawhuaveang, D. D., Mei, M. L., Chu, C. H., & Yu, O. Y. (2024). Preventive dental erosion with silver diamine fluoride: An in vitro study. *Journal of Dentistry*, *145*, 105022. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2024.105022>
- de SOUZA, B. M., Vertuan, M., Gonçalves, I. V. B., & Magalhães, A. C. (2020). Effect of different citrus sweets on the development of enamel erosion in vitro. *Journal of Applied Oral Science*, *28*, e20200182. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2020-0182>
- Derceli, J. dos R., Faraoni, J. J., Dias, P. C., Matos, L. L. M. de, & Palma-Dibb, R. G. (2020). Effect of gaseous hydrochloric acid on human and bovine enamel. *Clinical and Laboratorial Research in Dentistry*. <https://doi.org/10.11606/ISSN.2357-8041.CLRD.2020.171222>
- Enax, J., Fandrich, P., Schulze zur Wiesche, E., & Epple, M. (2024). The Remineralization of Enamel from Saliva: A Chemical Perspective. *Dentistry Journal 2024*, *Vol. 12*, Page 339, *12*(11), 339. <https://doi.org/10.3390/DJ12110339>
- Faraoni, J. J., de Andrade, J. B., de Matos, L. L. M., & Palma-Dibb, R. G. (2020). Effect of Duodenogastric Reflux on Dental Enamel. *Oral Health & Preventive Dentistry*, *18*(1), 701–706. <https://doi.org/10.3290/J.OHPD.A45073>
- Fernández, C. E., Brandao, A. C. S., Bícigo-Pereira, E. C., Del Bel Cury, A. A., Cury, J. A., & Tenuta, L. M. A. (2022). Effect of pH and titratable acidity on enamel and dentine erosion. *Clinical Oral Investigations*, *26*(9), 5867–5873. <https://doi.org/10.1007/S00784-022-04544-4/FIGURES/3>

- Fischer, N. G., & Aparicio, C. (2021). The salivary pellicle on dental biomaterials. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 200, 111570. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2021.111570>
- Fujimoto, Y., Iwasa, M., Murayama, R., Miyazaki, M., Nagafuji, A., & Nakatsuka, T. (2010). Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. *Dental Materials Journal*, 29(4), 392–397. <https://doi.org/10.4012/DMJ.2010-015>
- Hellwig, E., Lussi, A., & Goetz, F. (2013). Influence of Human Saliva on the Development of Artificial Erosions. *Caries Research*, 47(6), 553–558. <https://doi.org/10.1159/000351634>
- Iftikhar, S., Jahanzeb, N., Saleem, M., ur Rehman, S., Matinlinna, J. P., & Khan, A. S. (2021). The trends of dental biomaterials research and future directions: A mapping review. *The Saudi Dental Journal*, 33(5), 229. <https://doi.org/10.1016/J.SDENTJ.2021.01.002>
- Ikemura, K., Tay, F. R., Kouro, Y., Endo, T., Yoshiyama, M., Miyai, K., & Pashley, D. H. (2003). Optimizing filler content in an adhesive system containing pre-reacted glass-ionomer fillers. *Dental Materials*, 19(2), 137–146. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(02\)00022-2](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(02)00022-2)
- Imazato, S., Nakatsuka, T., Kitagawa, H., Sasaki, J. I., Yamaguchi, S., Ito, S., Takeuchi, H., Nomura, R., & Nakano, K. (2023). Multiple-Ion Releasing Bioactive Surface Pre-Reacted Glass-Ionomer (S-PRG) Filler: Innovative Technology for Dental Treatment and Care. *Journal of Functional Biomaterials 2023, Vol. 14, Page 236, 14(4)*, 236. <https://doi.org/10.3390/JFB14040236>
- Inoue, H., Lan, L., Ke, Z., Yang, Y., Zheng, F., Mao, D., & Goda, S. (2022). Effects of S-PRG filler eluate on MMP-1 and MMP-3 secretion by human gingival fibroblasts. *Dental Materials Journal*, 41(1), 159–166. <https://doi.org/10.4012/DMJ.2021-062>
- Ito, S., Iijima, M., Hashimoto, M., Tsukamoto, N., Mizoguchi, I., & Saito, T. (2011). Effects of surface pre-reacted glass-ionomer fillers on mineral induction by phosphoprotein. *Journal of Dentistry*, 39(1), 72–79. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2010.10.011>
- Itota, T., Carrick, T. E., Yoshiyama, M., & McCabe, J. F. (2004). Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite. *Dental Materials*, 20(9), 789–795. <https://doi.org/10.1016/J.DENTAL.2003.11.009>
- Jiemkim, A., Tharapiwattananon, T., & Songsiripradubboon, S. (2023). Combined use of stannous fluoride-containing mouth rinse and toothpaste prevents enamel erosion in vitro. *Clinical Oral Investigations*, 27(9), 5189–5201. <https://doi.org/10.1007/S00784-023-05138-4>
- Kanzow, P., Wegehaupt, F. J., Attin, T., & Wiegand, A. (2016). Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence International (Berlin, Germany : 1985)*, 47(4), 275–278. <https://doi.org/10.3290/J.QI.A35625>
- Kawasaki, K., & Kambara, M. (2014). Effects of Ion-Releasing Tooth-Coating Material on Demineralization of Bovine Tooth Enamel. *International Journal of Dentistry*, 2014, 463149. <https://doi.org/10.1155/2014/463149>
- Kovrlija, I., Locs, J., & Loca, D. (2021). Octacalcium phosphate: Innovative vehicle for the local biologically active substance delivery in bone regeneration. *Acta Biomaterialia*, 135, 27–47. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2021.08.021>

- Lechien, J. R., Calvo-Henriquez, C., Chiesa-Estomba, C. M., Barillari, M. R., Trozzi, M., Meucci, D., Peer, S., Ben Abdelouahed, F., Schindler, A., & Saussez, S. (2020). Reflux and dental disorders in the pediatric population: A systematic review. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, *136*, 110166. <https://doi.org/10.1016/J.IJPORL.2020.110166>
- Liu, Q., Chen, Y. ying, Hong, D. wei, Lin, J. hui, Wu, X. ming, & Yu, H. (2024). Protecting primary teeth from dental erosion through bioactive glass. *Journal of Dentistry*, *147*, 105109. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2024.105109>
- Marsicano, J. A., De Moura-Grec, P. G., Bonato, R. C. S., Sales-Peres, M. D. C., Sales-Peres, A., & Sales-Peres, S. H. D. C. (2013). Gastroesophageal reflux, dental erosion, and halitosis in epidemiological surveys: A systematic review. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *25*(2), 135–141. <https://doi.org/10.1097/MEG.0B013E32835AE8F7>
- Moda, M. D., Fagundes, T. C., Bresciani, E., Briso, A. L. F., & Dos Santos, P. H. (2019). Comparison of in vitro erosion protocols in bovine teeth to simulate natural erosion lesion: analysis of mechanical properties and surface gloss. *Journal of Applied Oral Science*, *27*, e20180107. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0107>
- Murayama, R., Nagura, Y., Yamauchi, K., Moritake, N., Iino, M., Ishii, R., Kurokawa, H., Miyazaki, M., & Hosoya, Y. (2018). Effect of a coating material containing surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer filler on prevention of primary enamel demineralization detected by optical coherence tomography. *Journal of Oral Science*, *60*(3), 367–373. <https://doi.org/10.2334/JOSNUSD.17-0256>
- Nirwan, J. S., Hasan, S. S., Babar, Z. U. D., Conway, B. R., & Ghori, M. U. (2020). Global Prevalence and Risk Factors of Gastro-oesophageal Reflux Disease (GORD): Systematic Review with Meta-analysis. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-020-62795-1>
- Ortiz, A. D. C., Fideles, S. O. M., Pomini, K. T., & Buchaim, R. L. (2021). Updates in association of gastroesophageal reflux disease and dental erosion: systematic review. *Htts://Doi.Org/10.1080/17474124.2021.1890030*, *15*(9), 1037–1046. <https://doi.org/10.1080/17474124.2021.1890030>
- Passos, V. F., Rodrigues, L. K. A., & Santiago, S. L. (2018). The effect of magnesium hydroxide-containing dentifrice using an extrinsic and intrinsic erosion cycling model. *Archives of Oral Biology*, *86*, 46–50. <https://doi.org/10.1016/J.ARCHORALBIO.2017.11.006>
- Picos, A., Badea, M. E., & Dumitrascu, D. L. (2018). DENTAL EROSION IN GASTRO-ESOPHAGEAL REFLUX DISEASE. A SYSTEMATIC REVIEW. *Medicine and Pharmacy Reports*, *91*(4), 387–390. <https://doi.org/10.15386/CJMED-1017>
- Rajab, Y. S., & Zaidan, T. F. (2023). Evaluation of Salivary Pepsin Levels and Dental Erosion in Patients With Gastroesophageal Reflux Disease. *Cureus*, *15*(2). <https://doi.org/10.7759/CUREUS.34744>
- Ranjitkar, S., Kaidonis, J. A., & Smales, R. J. (2012). Gastroesophageal Reflux Disease and Tooth Erosion. *International Journal of Dentistry*, *2012*. <https://doi.org/10.1155/2012/479850>

- Sabel, N., Karlsson, A., & Sjölin, L. (2019). XRMA analysis and X-ray diffraction analysis of dental enamel from human permanent teeth exposed to hydrogen peroxide of varying pH. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, *11*(6), e512–e520. <https://doi.org/10.4317/JCED.55618>
- Saku, S., Kotake, H., Scougall-Vilchis, R. J., Ohashi, S., Hotta, M., Horiuchi, S., Hamada, K., Asaoka, K., Tanaka, E., & Yamamoto, K. (2010). Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dental Materials Journal*, *29*(2), 193–198. <https://doi.org/10.4012/DMJ.2009-050>
- Schlueter, N., Ganss, C., Hardt, M., Schegietz, D., & Klimek, J. (2007). Effect of pepsin on erosive tissue loss and the efficacy of fluoridation measures in dentine in vitro. *Acta Odontologica Scandinavica*, *65*(5), 298–305. <https://doi.org/10.1080/00016350701678733>
- Schlueter, N., Ganss, C., Pötschke, S., Klimek, J., & Hannig, C. (2012). Enzyme Activities in the Oral Fluids of Patients Suffering from Bulimia: A Controlled Clinical Trial. *Caries Research*, *46*(2), 130–139. <https://doi.org/10.1159/000337105>
- Schlueter, N., Glatzki, J., Klimek, J., & Ganss, C. (2012a). Erosive-abrasive tissue loss in dentine under simulated bulimic conditions. *Archives of Oral Biology*, *57*(9), 1176–1182. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.04.001>
- Schlueter, N., Glatzki, J., Klimek, J., & Ganss, C. (2012b). Erosive-abrasive tissue loss in dentine under simulated bulimic conditions. *Archives of Oral Biology*, *57*(9), 1176–1182. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.04.001>
- 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*(Suppl. 1), 13–23. <https://doi.org/10.1159/000326819>
- Schlueter, N., Hardt, M., Klimek, J., & Ganss, C. (2010). Influence of the digestive enzymes trypsin and pepsin in vitro on the progression of erosion in dentine. *Archives of Oral Biology*, *55*(4), 294–299. <https://doi.org/10.1016/J.ARCHORALBIO.2010.02.003>
- Shellis, R. P., Barbour, M. E., Jones, S. B., & Addy, M. (2010). Effects of pH and acid concentration on erosive dissolution of enamel, dentine, and compressed hydroxyapatite. *European Journal of Oral Sciences*, *118*(5), 475–482. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0722.2010.00763.X>
- Shimazu, K., Ogata, K., & Karibe, H. (2011). Evaluation of the ion-releasing and recharging abilities of a resin-based fissure sealant containing S-PRG filler. *Dental Materials Journal*, *30*(6), 923–927. <https://doi.org/10.4012/DMJ.2011-124>
- Silversrone, L. M., Saxton, C. A., Dogon, I. L., & Fejerskov, O. (1975). Variation in the Pattern of Acid Etching of Human Dental Enamel Examined by Scanning Electron Microscopy. *Caries Research*, *9*(5), 373–387. <https://doi.org/10.1159/000260179>
- Spinola, M. da S., Moecke, S. E., Rossi, N. R., Nakatsuka, T., Borges, A. B., & Torres, C. R. G. (2020). Efficacy of S-PRG filler containing varnishes on enamel demineralization prevention. *Scientific Reports*, *10*(1), 18992. <https://doi.org/10.1038/S41598-020-76127-W>
- Suge, T., & Matsuo, T. (2020). Effects of toothpaste containing surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) filler on crystallinity and acid resistance of hydroxyapatite. *American Journal of Dentistry*, *33*(4), 183–186.

Surarit, R., Jiradethprapai, K., Lertsatira, K., Chanthongthiti, J., Teanchai, C., & Horsophonphong, S. (2023). Erosive potential of vitamin waters, herbal drinks, carbonated soft drinks, and fruit juices on human teeth: An in vitro investigation. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 17(3), 129–135. <https://doi.org/10.34172/joddd.2023.40413>

Vertuan, M., França Da Silva, J., Ferreira, A. M., Braga, A. S., & Magalhães, A. C. (2022). Effect of a Toothpaste Containing Surface Pre-Reacted Glass-Ionomer Filler on the Remineralization of Artificial Carious Enamel Lesions in situ. *Caries Research*, 56(5–6), 447–454. <https://doi.org/10.1159/000527388>

Vukosavljevic, D., Custodio, W., Buzalaf, M. A. R., Hara, A. T., & Siqueira, W. L. (2014). Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Archives of Oral Biology*, 59(6), 631–638. <https://doi.org/10.1016/J.ARCHORALBIO.2014.02.002>

Wang, Y. J., Lang, X. Q., Wu, D., He, Y. Q., Lan, C. H., Xiao-Xiao, Wang, B., Zou, D. W., Wu, J. M., Zhao, Y. Bin, Dettmar, P. W., Chen, D. F., & Yang, M. (2020). Salivary Pepsin as an Intrinsic Marker for Diagnosis of Sub-types of Gastroesophageal Reflux Disease and Gastroesophageal Reflux Disease-related Disorders. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 26(1), 74–84. <https://doi.org/10.5056/JNM19032>

Wegehaupt, F. J., Tauböck, T. T., Sener, B., & Attin, T. (2012). Long-term protective effect of surface sealants against erosive wear by intrinsic and extrinsic acids. *Journal of Dentistry*, 40(5), 416–422. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2012.02.003>

Yadlapati, R., Kaizer, A., Greytak, M., Ezekewe, E., Simon, V., & Wani, S. (2021). Diagnostic performance of salivary pepsin for gastroesophageal reflux disease. *Diseases of the Esophagus*, 34(4), 1–8. <https://doi.org/10.1093/DOTE/DOAA117>

Yoshiyasu, K., Wakamatsu, N., Iinuma, M., & Saitoh, I. (2022). Effects of mouthguard and paste containing S-PRG filler on remineralization of artificial subsurface carious lesions. *Pediatric Dental Journal*, 32(3), 160–170. <https://doi.org/10.1016/J.PDJ.2022.07.003>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A erosão dentária é uma condição cada vez mais prevalente, especialmente devido ao aumento de pacientes com Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) e à dieta moderna. Estudos como este, que investigam os efeitos das enzimas presentes no suco gástrico sobre a superfície do esmalte dentário e os tratamentos potenciais para essa condição, são essenciais para orientar cirurgiões-dentistas na escolha das abordagens terapêuticas mais eficazes para prevenir e tratar a erosão dentária.

Os resultados deste estudo revelam que a presença da pepsina em ciclos erosivos causa um impacto negativo significativo no esmalte dentário, levando à perda de microdureza superficial, degradação da morfologia da superfície e alterações na microestrutura dos cristais de hidroxiapatita. Além disso, observa-se uma redução nas concentrações de cálcio e fósforo, elementos essenciais para a integridade do esmalte. A pepsina, ao atuar em conjunto com o ácido clorídrico, intensifica a erosão do esmalte, acelerando a perda de microdureza superficial. Embora o uso diário de um gel contendo partículas de S-PRG tenha favorecido a incorporação de elementos bioativos à superfície do esmalte e favorecido a formação do OCP, os resultados não indicam uma proteção eficaz contra a perda de microdureza, especialmente quando comparados ao grupo controle, sugerindo que o gel não preveniu a erosão dentária em condições severas.

Futuros estudos *in situ* ou *in vivo* são essenciais para entender melhor a interação entre pepsina e esmalte, além de avaliar a eficácia de outras concentrações do S-PRG em condições orais dinâmicas. Além disso, investigar o uso de novos biomateriais dentários, bem como meios para fortalecer a película adquirida pode contribuir para a proteção contra a erosão dentária, especialmente em pacientes com DRGE.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRIA, A. *et al.* Comparative Effects of CPP-ACP and Xylitol F-Varnishes on the Reduction of Tooth Erosion and Its Progression. **Brazilian Dental Journal**, [s. l.], v. 31, n. 6, p. 664–672, 2020. Acesso em: 14 maio 2023.
- ALJULAYFI, I. *et al.* The interplay of saliva, erosion and attrition on enamel and dentine. **The Saudi Dental Journal**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 232, 2022. Acesso em: 18 abr. 2023.
- AMAECCHI, B. T. *et al.* Effectiveness of S-PRG Filler-Containing Toothpaste in Inhibiting Demineralization of Human Tooth Surface. **The Open Dentistry Journal**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 811–819, 2018. Acesso em: 30 out. 2024.
- AMAECCHI, B. T. *et al.* Evaluation of the caries-preventive effect of toothpaste containing surface prereacted glass-ionomer filler. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. e12249, 2017. Acesso em: 6 nov. 2024.
- BARTLETT, D. W. *et al.* A study of the association between gastro-oesophageal reflux and palatal dental erosion. **British Dental Journal** 1996 **181:4**, [s. l.], v. 181, n. 4, p. 125–131, 1996. Acesso em: 6 nov. 2024.
- BERGANTIN, B. T. P. *et al.* S-PRG-based composites erosive wear resistance and the effect on surrounding enamel. **Scientific Reports** 2022 **12:1**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–8, 2022. Acesso em: 8 jul. 2023.
- BUZALAF, M. A. R.; HANNAS, A. R.; KATO, M. T. Saliva and dental erosion. **Journal of Applied Oral Science**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 493–502, 2012. Acesso em: 15 abr. 2023.
- CARVALHO, T. S. *et al.* Acquired pellicle protein-based engineering protects against erosive demineralization. **Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 102, p. 103478, 2020. Acesso em: 18 abr. 2023.
- CARVALHO, T. S.; BAUMANN, T.; LUSSI, A. In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion. **Clinical Oral Investigations**, [s. l.], v. 20, n. 8, p. 1973–1979, 2016. Acesso em: 8 jul. 2023.
- CHAKRABORTY, A.; ANJANKAR, A. P. Association of Gastroesophageal Reflux Disease With Dental Erosion. **Cureus**, [s. l.], v. 14, n. 10, 2022. Acesso em: 18 abr. 2023.
- CHATZIDIMITRIOU, K. *et al.* Prevalence and association of gastroesophageal reflux disease and dental erosion: An overview of reviews. **Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 133, p. 104520, 2023. Acesso em: 14 maio 2023.
- DI FEDE, O. *et al.* Oral manifestations in patients with gastro-oesophageal reflux disease: a single-center case–control study. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 336–340, 2008. Acesso em: 14 maio 2023.
- DIONYSOPOULOS, D. The Role of Bioactive Glasses in Dental Erosion—A Narrative Review. **Compounds** 2024, Vol. 4, Pages 442–452, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 442–452, 2024. Acesso em: 3 dez. 2024.

- DIONYSOPOULOS, D.; TOLIDIS, K.; SFEIKOS, T. Effect of CPP-ACPF and Nano-hydroxyapatite Preventive Treatments on the Susceptibility of Enamel to Erosive Challenge. **Oral health & preventive dentistry**, [s. l.], v. 17, n. 4, 2019. Acesso em: 3 dez. 2024.
- FARAONI, J. J. *et al.* Effect of Duodenogastric Reflux on Dental Enamel. **Oral health & preventive dentistry**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 701–706, 2020. Acesso em: 18 abr. 2023.
- FUJIMOTO, Y. *et al.* Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. **Dental materials journal**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 392–397, 2010. Acesso em: 11 abr. 2023.
- HELLWIG, E.; LUSSI, A.; GOETZ, F. Influence of Human Saliva on the Development of Artificial Erosions. **Caries Research**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 553–558, 2013. Acesso em: 8 jul. 2023.
- IFTIKHAR, S. *et al.* The trends of dental biomaterials research and future directions: A mapping review. **The Saudi Dental Journal**, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 229, 2021. Acesso em: 14 maio 2023.
- INOUE, H. *et al.* Effects of S-PRG filler eluate on MMP-1 and MMP-3 secretion by human gingival fibroblasts. **Dental materials journal**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 159–166, 2022. Acesso em: 11 abr. 2023.
- ITOTA, T. *et al.* Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite. **Dental Materials**, [s. l.], v. 20, n. 9, p. 789–795, 2004. Acesso em: 6 nov. 2024.
- KAWASAKI, K.; KAMBARA, M. Effects of Ion-Releasing Tooth-Coating Material on Demineralization of Bovine Tooth Enamel. **International Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 2014, p. 463149, 2014. Acesso em: 6 nov. 2024.
- LECHIEN, J. R. *et al.* Reflux and dental disorders in the pediatric population: A systematic review. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, [s. l.], v. 136, p. 110166, 2020. Acesso em: 14 maio 2023.
- LI, Y. *et al.* Association between gastro-oesophageal reflux disease and dental erosion in children: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 125, p. 104247, 2022. Acesso em: 12 nov. 2024.
- MARTINI, T. *et al.* Proteomics of acquired pellicle in gastroesophageal reflux disease patients with or without erosive tooth wear. **Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 81, p. 64–69, 2019. Acesso em: 18 abr. 2023.
- MODA, M. D. *et al.* Comparison of in vitro erosion protocols in bovine teeth to simulate natural erosion lesion: analysis of mechanical properties and surface gloss. **Journal of Applied Oral Science**, [s. l.], v. 27, p. e20180107, 2019. Acesso em: 1 ago. 2024.
- MURAYAMA, R. *et al.* Effect of a coating material containing surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer filler on prevention of primary enamel demineralization detected by optical coherence tomography. **Journal of Oral Science**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 367–373, 2018. Acesso em: 4 dez. 2024.
- NÉ, Y. G. de S. *et al.* Treatment for dental erosion: a systematic review of in vitro studies. **PeerJ**, [s. l.], v. 10, p. e13864, 2022.

- NIRWAN, J. S. *et al.* Global Prevalence and Risk Factors of Gastro-oesophageal Reflux Disease (GORD): Systematic Review with Meta-analysis. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2020. Acesso em: 14 maio 2023.
- ORTIZ, A. D. C. *et al.* Updates in association of gastroesophageal reflux disease and dental erosion: systematic review. <https://doi.org/10.1080/17474124.2021.1890030>, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 1037–1046, 2021. Acesso em: 11 abr. 2023.
- PICOS, A.; BADEA, M. E.; DUMITRASCU, D. L. DENTAL EROSION IN GASTRO-ESOPHAGEAL REFLUX DISEASE. A SYSTEMATIC REVIEW. **Medicine and Pharmacy Reports**, [s. l.], v. 91, n. 4, p. 387–390, 2018. Acesso em: 14 maio 2023.
- SCHLUETER, N. *et al.* Erosive-abrasive tissue loss in dentine under simulated bulimic conditions. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 57, n. 9, p. 1176–1182, 2012a.
- SCHLUETER, N. *et al.* Erosive-abrasive tissue loss in dentine under simulated bulimic conditions. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 57, n. 9, p. 1176–1182, 2012b. Acesso em: 18 abr. 2023.
- SCHLUETER, N. *et al.* Influence of the digestive enzymes trypsin and pepsin in vitro on the progression of erosion in dentine. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 55, n. 4, p. 294–299, 2010. Acesso em: 8 jul. 2023.
- SCHLUETER, N. *et al.* Methods for the Measurement and Characterization of Erosion in Enamel and Dentine. **Caries Research**, [s. l.], v. 45, n. Suppl. 1, p. 13–23, 2011. Acesso em: 6 nov. 2024.
- SCHLUETER, N. *et al.* Terminology of Erosive Tooth Wear: Consensus Report of a Workshop Organized by the ORCA and the Cariology Research Group of the IADR. **Caries Research**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 2–6, 2020. Acesso em: 19 nov. 2024.
- SPINOLA, M. da S. *et al.* Efficacy of S-PRG filler containing varnishes on enamel demineralization prevention. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 18992, 2020. Acesso em: 6 nov. 2024.
- VERTUAN, M. *et al.* Effect of an experimental TiF4/NaF solution in preventing tooth erosion. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 157, p. 105823, 2024. Acesso em: 3 dez. 2024.
- WANG, Y. J. *et al.* Salivary Pepsin as an Intrinsic Marker for Diagnosis of Sub-types of Gastroesophageal Reflux Disease and Gastroesophageal Reflux Disease-related Disorders. **Journal of Neurogastroenterology and Motility**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 74–84, 2020. Acesso em: 11 abr. 2023.
- YADLAPATI, R. *et al.* Diagnostic performance of salivary pepsin for gastroesophageal reflux disease. **Diseases of the Esophagus**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 1–8, 2021. Acesso em: 18 abr. 2023.
- YOSHIYASU, K. *et al.* Effects of mouthguard and paste containing S-PRG filler on remineralization of artificial subsurface carious lesions. **Pediatric Dental Journal**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 160–170, 2022. Acesso em: 11 maio 2023.
- ZHANG, D. *et al.* Global, regional and national burden of gastroesophageal reflux disease, 1990–2019: update from the GBD 2019 study. **Annals of Medicine**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 1372, 2022. Acesso em: 14 maio 2023.

ANEXO A: COMPROVANTE DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - UFMA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO E EROSÃO DENTAL: influência da pepsina no processo erosivo do esmalte dental

Pesquisador: MAYRON GUEDES SILVA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 71556523.4.0000.5087

Instituição Proponente: Universidade Federal do Maranhão

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.480.083

Apresentação do Projeto:

Desenho:

Trata-se de uma pesquisa de mestrado em Odontologia que constitui um estudo Analítico Experimental in vitro e a metodologia adotada contempla a investigação do efeito da enzima digestiva pepsina sobre a superfície do esmalte dental compreendendo a avaliação do potencial de degradação deste substrato e análises dos efeitos terapêuticos da escovação com materiais bioativos na erosão dental do esmalte.

O estudo será iniciado somente após aprovação pelo Comitê de Ética.

Para o experimento, serão coletadas 500ml de saliva humana a partir de 10 voluntários e selecionados 36 dentes humanos doados pelo Banco de Dentes Humanos do Curso de Odontologia da UFMA. Serão incluídos dentes livres de trincas e cáries, enquanto a saliva será doada por voluntários adultos saudáveis residentes na cidade de São Luís-MA.

Apesar dos dentes serem oriundos de doação pelo Banco de Dentes Humanos do Curso de Odontologia da UFMA, para a coleta de saliva humana será aplicado um Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) para todos os voluntários que desejarem participar do estudo.

Para definir o número de amostras e de doadores de saliva, o cálculo amostral de não-inferioridade foi realizado no Software G*Power 3.1 (Franz Faul, Universität, Germany), utilizando ANOVA (f teste). Considerando um intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 0,05 com 80% de poder de teste do estudo. Considerando a possibilidade de perdas de 20%, será

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho Cidade Universitária Dom Delgado

Bairro: Bacanga

CEP: 65.080-805

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO - UFMA



Continuação do Parecer: 6.460.083

Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	BIOLOGICO.pdf	20:14:00	SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	19/07/2023 20:13:29	MAYRON GUEDES SILVA	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_JUSTIFICADO.pdf	19/07/2023 20:04:20	MAYRON GUEDES SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 01 de Novembro de 2023

Assinado por:
Emanuel Péricles Salvador
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho Cidade Universitária Dom Delgado
Bairro: Bacanga **CEP:** 65.080-805
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br