

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

JOSÉ CAETANO DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DA QUITOSANA NANOPARTICULADA NA
BIOMODIFICAÇÃO DE DENTINA ERODIDA. ANÁLISE
LONGITUDINAL CLÍNICA E FOTOGRÁFICA DAS
RESTAURAÇÕES**

Ribeirão Preto
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

JOSÉ CAETANO DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DA QUITOSANA NANOPARTICULADA NA
BIOMODIFICAÇÃO DE DENTINA ERODIDA. ANÁLISE
LONGITUDINAL CLÍNICA E FOTOGRÁFICA DAS
RESTAURAÇÕES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, para obtenção do título de
Cirurgião-Dentista.

Departamento de Odontologia Restauradora

Área de Concentração: Dentística

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Silmara Aparecida Milori Corona

Ribeirão Preto

2019

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Silmara Aparecida Milori Corona, pela imensa sabedoria com a qual conduziu a realização desse trabalho, com doses precisas de correção e afaço, assim como uma mãe, e pelos conhecimentos e exemplos transmitidos ao longo dos anos de graduação.

À professora Aline Evangelista de Souza Gabriel, pelos ensinamentos, carinho e contribuições essenciais a este trabalho.

Ao professor Antônio Cláudio Tedesco e à bolsista em Treinamento Técnico Nível III Luandra Aparecida Unten Takahashi, pelo desenvolvimento do biomodificador de quitosana nanoparticulada e inegável apoio a este trabalho.

À pós-doutoranda Fabiana Almeida Curylofo Zotti, pela amizade, carinho e inegável apoio na elaboração deste trabalho.

Aos pós-graduandos Thiago Vinicius Cortez, Bruna Neves de Freitas e Isabela Rodrigues Ziotti, não só pelo auxílio indispensável durante a elaboração deste trabalho, mas também pela amizade construída ao longo destes anos.

Aos funcionários José Ap. Neves do Nascimento, Benedito Aparecido Silva, Fátima Aparecida Rizoli, Fred Augusto Batista Farias, Antonio Sérgio Aparecido Mesca, Karina Dadalt Quaglio, Vera do Nascimento Scandelai, Silvia Helena Fabris F. Campos, Rosângela Aparecida Ferezin e Cleria Donizete de Souza pela dedicação, amizade e ajuda fundamental nos atendimentos clínicos e agendamento dos pacientes em todos estes anos.

Às secretárias Maria Amália Viesti de Oliveira e Maria Isabel C. Francisco Miguel por todo apoio institucional, paciência e carinho.

À minha dupla de clínica, Renata Sant'anna Consiglieri, pela paciência, amizade, cumplicidade e habilidades desenvolvidas ao longo de nossa formação.

Aos graduandos, Tamires Fernanda Medeiros, Juliana D. Corpa Tardelli, Jéssica Felix de Oliveira e Julia de Lima, e aos demais colegas de turma, pela amizade e capacidades desenvolvidas ao longo da graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica (processo 2017/25757-8).

À minha família, em especial meus pais Maria e José, que são a base de tudo.

"Prefiram a instrução à prata, e o conhecimento ao ouro puro, pois a sabedoria é mais preciosa do que rubis; nada do que vocês possam desejar compara-se a ela. Eu, a sabedoria, moro com a prudência, e tenho o conhecimento que vem do bom senso."

Provérbios 8:10-12. Bíblia Sagrada NVI

SUMÁRIO

RESUMO	06
INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	08
PROPOSIÇÃO	10
MATERIAIS E MÉTODOS	10
Delineamento experimental	10
Cálculo amostral	10
Aspectos éticos	11
Seleção dos pacientes e dentes	11
Tratamento das lesões de erosão	12
Preparo do biomodificador	12
Tratamento Restaurador	12
Avaliação clínica e fotográfica das restaurações	13
Forma de análise de resultados	16
RESULTADOS	16
DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	22
 ANEXO 1 - Avaliação fotográfica nos períodos baseline (7 dias) e final (6 meses) após a realização das restaurações	 27

Influência da quitosana nanoparticulada na biomodificação de dentina erodida. Análise longitudinal clínica e fotográfica das restaurações

Resumo

A aplicação de sistemas adesivos sobre dentina erodida pode representar um desafio à terapia restauradora, visto que as modificações oriundas da erosão dental comprometem a união do adesivo à matriz orgânica dentinária. A aplicação clínica de substâncias biomodificadoras, como a quitosana nanoparticulada, pode melhorar a resistência mecânica das fibras colágenas, usadas como suporte para estabelecimento da interface adesiva. Este estudo teve o objetivo de avaliar a influência da biomodificação com quitosana nanoparticulada em lesões de erosão por meio de análise longitudinal clínica e fotográfica das restaurações realizadas. A amostra foi composta por pacientes entre 18 e 65 anos com lesões de erosão não cáries, de profundidade rasa ou média, localizadas na superfície palatina ou lingual de dois dentes homólogos. Os dentes de cada paciente foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de acordo com o tratamento da superfície da dentina: 1) sem biomodificação (controle) e 2) quitosana nanoparticulada a 2,5%. Para o grupo que recebeu a biomodificação, após condicionamento com ácido fosfórico a 35% e lavagem da cavidade, foi aplicada solução de quitosana nanoparticulada a 2,5% por 60 segundos, e a superfície foi seca com papel absorvente. Em seguida, os espécimes foram restaurados com adesivo (Single Bond Universal - ©3M) e resina composta (Charisma – ©Kulzer). Para as análises clínicas e fotográficas das restaurações, três profissionais utilizaram os critérios *United States Public Health Service (USPHS)* modificados nos períodos baseline (7 dias) e final (6 meses) após a realização das restaurações. Os dados obtidos foram analisados por meio do teste de Kruskal-Wallis (KW) através do software SPSS (versão 25.0). Após 7 dias, 100% das restaurações receberam escore *Alpha* em todos os critérios clínicos e fotográficos. Após 6 meses, 95% das restaurações receberam escore *Alpha* e 5% *Bravo* no critério clínico retenção, enquanto que 95% das restaurações receberam escore *Alpha* e 5% *Charlie* no critério clínico adaptação marginal. Nos demais critérios clínicos e em todos os critérios fotográficos, 100% das restaurações receberam escore *Alpha*. Não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) entre os critérios analisados. A biomodificação da dentina erodida com quitosana nanoparticulada não influenciou clínica e fotograficamente as restaurações realizadas após 6 meses.

Palavras-chave: Erosão, quitosana nanoparticulada, biomodificação dentinária

Influence of nanoparticulate chitosan on the biomodification of eroded dentin. Clinical and photographic longitudinal analysis of restorations

Abstract

The application of adhesive systems on eroded dentine may represent a challenge to restorative therapy, since modifications resulting from dental erosion compromise the bonding of the adhesive to the organic dentin matrix. The clinical application of biomodifying substances, such as nanoparticulate chitosan, may improve the mechanical resistance of collagen fibrils, used as support for the establishment of the adhesive interface. The objective of this study was to evaluate the influence of biomodification with nanoparticulated chitosan on erosion lesions by means of clinical and photographic longitudinal analysis of the restorations. The sample consisted of patients between 18 and 65 years old with non-carious erosion lesions of shallow or medium depth, located on the palatine or lingual surface of two homologous teeth. The teeth of each patient were randomly assigned to two groups according to dentin surface treatment: 1) without biomodification (control) and 2) 2.5% nanoparticulate chitosan. For the group that received the biomodification, after conditioning with 35% phosphoric acid and cavity washing, 2.5% nanoparticulate chitosan solution was applied for 60 seconds, and the surface was dried with absorbent paper. The specimens were then restored with adhesive (Single Bond Universal - © 3M) and composite resin (Charisma - © Kulzer). For clinical and photographic analyzes of the restorations, three professionals used the United States Public Health Service (USPHS) criteria modified at baseline (7 days) and final (6 months) after restoration. The obtained data were analyzed through the Kruskal-Wallis test (KW) through SPSS software (version 25.0). After 7 days, 100% of the restorations received Alpha score in all clinical and photographic criteria. After 6 months, 95% of the restorations received Alpha score and 5% Bravo in the clinical retention criterion, while 95% of the restorations received Alpha score and 5% Charlie in the marginal adaptation clinical criterion. In all other clinical criteria and in all photographic criteria, 100% of the restorations received Alpha score. There were no statistically significant differences ($p > 0.05$) among the analyzed criteria. The biomodification of dentin eroded with nanoparticulate chitosan did not clinically and photographically influence the restorations performed after 6 months.

Key words: Erosion, nanoparticulate chitosan, dentin biomodification

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Compreende-se por erosão dental a perda irreversível e progressiva de estrutura dental, ocasionada por processos químicos não bacterianos, que têm como origem diferentes fatores etiológicos, o que permite classificá-la em dois tipos: erosão intrínseca e extrínseca.

A erosão intrínseca ocorre pelo contato de ácido gástrico aos substratos dentários (Imfeld, 1996) durante regurgitação, vômitos recorrentes ou refluxo gastroesofágico de origem psicossomática (anorexia e bulimia) ou somática (gravidez, alcoolismo e alguns problemas gastrointestinais). Por outro lado, a erosão extrínseca é provocada pela ação de ácidos exógenos, originados na dieta (bebidas ácidas) (Amaechi; Higham, 2005), e no uso de fármacos ou drogas.

O mecanismo de ação da erosão dental é explicado pela ação de ácido sobre esmalte (prismático e interprismático), o que causa desmineralização da fase inorgânica do dente, reduzindo assim a microdureza do esmalte e da camada de dentina radicular (Lussi et al., 1995). No esmalte erodido, a camada superficial se torna amolecida e há exposição dos prismas de esmalte semelhantemente ao padrão observado após o condicionamento ácido para aplicação de adesivos dentários. A ação de ácido sobre o tecido dentinário tem efeito semelhante ao esmalte, até o momento em que as fibras colágenas, que atuam como barreira mecânica e têm capacidade tampão (Kleter, et al, 1994), são expostas. A desmineralização e exposição da dentina à cavidade oral levam a um substrato de dentina esclerótica com uma camada superficial brilhante e hipermineralizada, além de obstrução dos túbulos dentinários e alteração da matriz inorgânica dentinária (Tay et al., 2004).

Os tratamentos minimamente invasivos são indicados quando há estrutura dental suficiente (no mínimo > 50%) (Machado; Fonseca, 2007). A degradação de colágeno dentinário tem sido geralmente associada ao baixo desempenho clínico de restaurações de resina composta (Soares et al., 2016). De acordo com Wang et al., 2014, a adesão é comprometida em substrato dentinário exposto a desafios mecânicos e/ou químicos, ou em dentina esclerótica (Tay et al., 2004).

Devido ao amolecimento da superfície dentinária durante o processo erosivo, a adesão nesse substrato é afetada negativamente. A matriz orgânica da dentina erodida dificulta a infiltração do adesivo, devido ao alto conteúdo de água das fibras colágenas e a possibilidade de colapso das mesmas, o que prejudica a hibridização e acelera a degradação da interface adesiva. (Zimmerli et al., 2012).

Portanto, a aplicação clínica de substâncias biomodificadoras, como a quitosana, pode melhorar a resistência mecânica do colágeno, aumentando sua resistência à degradação das fibrilas colágenas, usadas como suporte para estabelecimento das interfaces adesivas (Scheffel et al., 2014).

A quitosana, biopolímero hidrófilo a base de quitina, é, depois da celulose, o polissacarídeo mais abundante na natureza (Spin-Neto et al., 2012). Sua estrutura é formada por um polímero linear, com alta densidade de carga e grupos reativos, assim como várias pontes de hidrogênio (Tavaria et al., 2013). A quitosana possui ainda propriedades como: biocompatibilidade, bioadesão, biodegradabilidade e atoxicidade em células humanas (Pimenta et al., 2012), além de atividade antimicrobiana (Elsaka; Elnaghy, 2012) e capacidade quelante (Rabea et al., 2003; Silva et al., 2012).

Biomateriais de quitosana também são considerados aceleradores da reparação tecidual, visto que podem intensificar a produção de matriz extracelular pelo aumento da liberação de fatores de crescimento (Ueno et al., 2001). Em relação à matriz orgânica dentinária, esta é reforçada a partir de ligações cruzadas que ocorrem na incorporação da quitosana. O uso da quitosana reforça (Fawzy et al., 2013) o colágeno da dentina, aumentando o número de ligações cruzadas entre as fibras colágenas e neutralizando as metaloproteinases da matriz, visto que este biopolímero pode produzir arranjos microfibrilares (Kumar, 2000) de melhores propriedades mecânicas em matrizes orgânicas, como as constituídas de fibras colágenas. Estas ligações cruzadas consistem na união de moléculas por meio de ligações covalentes (Scheffel et al., 2014), processo utilizado para estabilizar tecidos biológicos (Amaral e Solari, 2009). A utilização de biomodificadores sobre a interface dentina-resina de dentes decíduos resultou em maior resistência à fadiga mesmo após seis meses de envelhecimento em saliva artificial (Vineeta et al., 2016).

Entretanto, devido à ausência de estudos *in vivo* que avaliem o comportamento longitudinal de restaurações realizadas em tecidos erodidos, e visando à preservação da estrutura dentária remanescente, torna-se importante avaliar a utilização de quitosana nanoparticulada para a biomodificação da dentina erodida.

PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da quitosana nanoparticulada a 2,5% na biomodificação da dentina erodida. O estudo teve os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar a influência da quitosana nanoparticulada a 2,5% na biomodificação da dentina erodida após tratamento de lesões erosivas nos períodos: após polimento (depois de 7 dias da confecção da restauração - baseline) e após seis meses, por meio de exame clínico e fotográfico utilizando os critérios *United States Public Health Service* (USPHS) modificados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental

Para realização do experimento foram selecionados 21 pacientes com lesões não cariosas erosivas, localizadas na superfície palatina ou lingual de dois dentes homólogos (n=21), de acordo com delineamento em blocos completos e casualizados. Os fatores estudados foram a biomodificação da dentina em dois níveis: quitosana nanoparticulada a 2,5% e sem biomodificação. As variáveis de resposta analisadas foram: 1) avaliação clínica longitudinal das restaurações, por meio de exame clínico USPHS modificado, nos períodos após 7 dias da restauração e após 6 meses; e 2) avaliação fotográfica das restaurações, que também foi realizada por meio de exame USPHS modificado, nos períodos após 7 dias da restauração e após 6 meses.

Cálculo amostral

Para determinar o tamanho da amostra do estudo, foi utilizado o site de cálculo amostral www.sealedenvelope.com (Sealed Envelope Ltd.), com a função power calculation, equivalente a um teste com os seguintes parâmetros $\alpha=5\%$, poder 90%, porcentagem do sucesso do grupo controle e experimental em 98% e limite de equivalência a 15% (15), chegando a um tamanho de amostra de 19 restaurações por grupo.

Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP via Plataforma Brasil (CAAE: 79949317.1.0000.5419). O termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por cada paciente, de acordo com a aprovação do Comitê de Ética desta mesma instituição.

Seleção dos pacientes e dentes

Foram examinados pacientes na Clínica de Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto com idade entre 18 e 65 anos, de ambos os gêneros. Os pacientes foram submetidos à profilaxia com pasta de pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água, realizada com taça de borracha (Jon, São Paulo, SP, Brasil) em superfícies lisas e escova de Robinson (Jon, São Paulo, SP, Brasil) nas superfícies oclusais, ambas conectadas ao micromotor (Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O exame clínico foi realizado sob iluminação adequada após a profilaxia.

Os pacientes receberam também instrução de dieta e informações sobre o tratamento de lesões erosivas, além de higiene bucal individualizada. O critério de inclusão do paciente foi a presença de no mínimo duas lesões erosivas, localizadas na superfície palatina ou lingual de dentes homólogos, com profundidade rasa ou média, além de vitalidade pulpar. Os dentes apresentaram resposta positiva ao teste térmico realizado com Endofrost (Roeko, Langenau, Alemanha).

Foram excluídos da pesquisa os pacientes que apresentaram DTM, dentes com dor e/ou sensibilidade espontânea, fístula e/ou edema. Ao final, foram selecionados 21 pacientes e, a estes, foram fornecidos detalhes sobre o tratamento restaurador. Foram preenchidas também as fichas de anamnese e os odontogramas relativos às condições gerais de saúde.

Os dentes dos pacientes que apresentaram necessidade de tratamento e que não foram selecionados para a pesquisa foram tratados na Clínica de Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP).

Tratamento das lesões de erosão

A randomização dos pacientes foi realizada utilizando uma planilha de computador. Com a ajuda de um gerador de números aleatórios disponível no website <http://randomnumbergenerator.intemodino.com/pt/>, os pacientes selecionados tiveram seus nomes numerados a fim de ordenar o tratamento. Os dentes dos pacientes foram distribuídos aleatoriamente entre o método de tratamento da dentina erodida (sem biomodificação) e quitosana nanoparticulada a 2,5%, por meio de lançamento de moeda (cara ou coroa). Foi realizado o tratamento de dois dentes em cada sessão clínica.

Antes da colocação do grampo para o isolamento absoluto do campo operatório, foram realizadas as fotografias iniciais (vestibular e palatina/lingual) dos dentes a serem restaurados (Canon EOS Rebel T2i 18.0 Megapixels, Cannon, Japão) e seleção da cor da resina composta Charisma (Kulzer South America, São Paulo SP, Brasil) utilizada nas restaurações das cavidades, por meio de escala de cores Vita 3D (Wilcos do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil).

Os dentes receberam isolamento absoluto com lençol de borracha (Madeitex, São José dos Campos, SP, Brasil), e foram utilizados grampos de vários números (Duflex, SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), de acordo com a morfologia dentária de cada dente (Croll, 1995).

Preparo do biomodificador

O preparo da quitosana nanoparticulada foi realizado no Centro de Nanotecnologia e Engenharia Tecidual da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), a partir de uma quitosana disponível comercialmente (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA), com baixo peso molecular (75–85% desacetilação).

Tratamento Restaurador

Todos os dentes a serem restaurados receberam o condicionamento seletivo com ácido fosfórico 35% por 30 segundos em esmalte, sendo que a dentina não foi condicionada. Após o condicionamento, foi realizada a lavagem da cavidade com água durante 1 minuto, remoção do excesso de água com cânula de sucção e secagem com bolinhas de algodão.

Para os dentes que receberam a biomodificação, foram aplicados 50 µL do biomodificador sobre a dentina, o qual permaneceu sobre a superfície por 1 min, seguido por secagem com papel absorvente (Adaptado de Ururahy et al., 2017).

O sistema adesivo Single Bond Universal (3M ESPE, São Paulo, SP, Brasil) foi aplicado em uma camada com aplicador descartável microbrush (KGBrush, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil), de forma ativa por 10 segundos, e fotoativado (Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil) em todos os dentes que seriam restaurados, seguindo instruções do fabricante.

Para a restauração em dentes anteriores foi aplicada resina composta Charisma (Kulzer South America, São Paulo SP, Brasil), pela técnica incremental, com espátula para resina, e fotoativação por 20 segundos de cada incremento.

Terminada a restauração, foi removido o isolamento absoluto e feito o registro dos pontos de contato oclusal com papel carbono (Angelus, Londrina, PR, Brasil). Os contatos prematuros e interferências oclusais foram removidos por meio do ajuste oclusal, utilizando-se pontas diamantadas (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil). Posteriormente, foram utilizadas pontas diamantadas (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) e discos (TDV, Praxis, Santa Catarina, SC, Brasil) para acabamento. Os pacientes retornaram após sete dias, para polimento final da restauração com pontas abrasivas (Enhance, Dentisply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil).

Avaliação clínica e fotográfica das restaurações

Os dentes foram avaliados por meio de análise clínica e fotográfica 7 dias após a confecção da restauração (após o polimento - baseline) e após 6 meses.

A análise clínica das restaurações foi realizada por três examinadores, seguindo os critérios USPHS modificados (Cvar; Ryge, 1971), que incluem a análise da retenção, descoloração marginal e adaptação marginal. As restaurações foram classificadas em 3 categorias: *Alpha* – quando o critério avaliado não apresentava problemas e a restauração estava em perfeita condição; *Bravo* – quando o critério avaliado apresentava pequenas falhas, porém, clinicamente aceitáveis e *Charlie* – quando o critério avaliado apresentava falhas relevantes e a restauração necessitava ser substituída. (Tabela 1).

Tabela 1 – Critérios USPHS modificados que foram utilizados durante a avaliação clínica das restaurações.

Categoria	Escore	Critério
Retenção	<i>Alpha</i>	Sem perda de material restaurador
	<i>Bravo</i>	Perda parcial de material restaurador
	<i>Charlie</i>	Perda total de material restaurador
Descoloração marginal	<i>Alpha</i>	Sem descoloração marginal
	<i>Bravo</i>	Leve descoloração marginal, sem penetração axial
	<i>Charlie</i>	Descoloração axial com penetração axial
Cárie secundária	<i>Alpha</i>	Sem recorrência de cárie
	<i>Bravo</i>	Com recorrência de cárie superficial
	<i>Charlie</i>	Com recorrência de cárie profunda
Adaptação marginal	<i>Alpha</i>	Perfeitamente adaptáveis, sem margens visíveis
	<i>Bravo</i>	Margem visível, porém clinicamente aceitável
	<i>Charlie</i>	Desadaptação marginal, falha clínica
Sensibilidade pós-operatória	<i>Alpha</i>	Sensibilidade estimulada ausente.
	<i>Bravo</i>	Sensibilidade estimulada presente e localizada.
	<i>Charlie</i>	Sensibilidade estimulada presente e difusa.

As avaliações qualitativas fotográficas foram realizadas 7 dias após o término do tratamento (baseline; logo após o polimento da restauração) e após 6 meses da realização do tratamento.

As fotografias intrabucais foram realizadas com máquina digital (Canon EOS Rebel T2i 18.0 Megapixels, Cannon, Japão) e espelho bucal para fotografia, registrando a superfície vestibular e palatina/lingual dos dentes restaurados, totalizando duas fotos para cada situação. A avaliação das fotografias foi feita por três examinadores, de forma cega e simultânea, através da visualização das imagens em uma tela de notebook (Positivo, 2013), sob mesmo ambiente e iluminação, seguindo os critérios USPHS (Cvar; Ryge, 1971), que incluem a análise da cor da restauração,

pigmentação marginal e forma anatômica. As restaurações foram classificadas em 3 categorias: *Alpha* – quando o critério avaliado não apresentava problemas e a restauração estava em perfeita condição; *Bravo* – quando o critério avaliado apresentava pequenas falhas, porém, clinicamente aceitáveis e *Charlie* – quando o critério avaliado apresentava falhas relevantes e a restauração necessitava ser substituída. (Tabela 2).

Tabela 2 – Critérios USPHS modificados que foram utilizados durante a avaliação fotográfica das restaurações.

Categoria	Escore	Critério
Cor da restauração	<i>Alpha</i>	Corresponde à estrutura dental adjacente em termos de cor e translucidez
	<i>Bravo</i>	Ligeira alteração em termos de cor, tonalidade ou translucidez entre a restauração e o dente adjacente
	<i>Charlie</i>	Alteração de cor e translucidez nítida
Pigmentação marginal	<i>Alpha</i>	Ausência de pigmentação ao longo da margem entre a restauração e o dente adjacente
	<i>Bravo</i>	Pigmentação ligeira ao longo da margem entre a restauração e o dente adjacente
	<i>Charlie</i>	Pigmentação presente ao longo da margem da restauração
Forma anatômica	<i>Alpha</i>	Restauração em continuidade com a forma anatômica existente
	<i>Bravo</i>	Restauração em descontinuidade com a forma anatômica do dente
	<i>Charlie</i>	Perda de material, expondo dentina ou base da restauração

Forma de análise de resultados

O teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$) foi utilizado para avaliação clínica e fotográfica das restaurações realizadas em lesões de erosão nos períodos 7 dias e 6 meses, com base nos critérios clínicos – retenção, adaptação marginal, descoloração marginal, cárie secundária e sensibilidade pós-operatória, e fotográficos – cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica, após biomodificação da dentina com quitosana nanoparticulada ou sem biomodificação. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software SPSS para Windows, versão 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

Após 7 dias, 100% das restaurações receberam escore *Alpha* em todos os critérios clínicos (retenção, descoloração marginal, cárie secundária, adaptação marginal e sensibilidade pós-operatória) e fotográficos (cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica) avaliados .

Após 6 meses, 95% das restaurações receberam escore *Alpha* e 5% *Bravo* no critério clínico retenção, enquanto que 95% das restaurações receberam escore *Alpha* e 5% *Charlie* no critério clínico adaptação marginal. Nos demais critérios clínicos (descoloração marginal, cárie secundária e sensibilidade pós-operatória) e em todos os critérios fotográficos (cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica), 100% das restaurações receberam escore *Alpha* (Tabelas 3 e 4).

Com base na análise estatística dos resultados através do teste de Kruskal-Wallis (KW), não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) entre as restaurações com biomodificação da dentina erodida com quitosana nanoparticulada nos períodos baseline (7 dias) e final (6 meses) após a realização das restaurações ($p = 0,1560$). A avaliação das restaurações dentárias foi realizada obtendo um kappa intra e inter examinador de 1,0 (kappa intra A = 1, B = 1 e C = 1; kappa inter Ax B = 1, Ax C = 1 e Cx B = 1), havendo concordância perfeita entre os examinadores.

Tabela 3. Resultados da análise clínica com base nos critérios USPFS modificados

Avaliação clínica	Retenção			Descoloração marginal			Cárie secundária			Adaptação marginal			Sensibilidade pós-operatória		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Biomodificador															
Com quitosana nano 2,5%	n= 21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0
6 meses	n= 20 (95%)	1 (5%)	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	20 (95%)	0	1 (5%)	21 (100%)	0	0
Sem quitosana na nano 2,5%	n= 21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0
6 meses	n= 20 (95%)	1 (5%)	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	20 (95%)	0	1 (5%)	21 (100%)	0	0

Tabela 4. Resultados da análise fotográfica com base nos critérios USPFS modificados

Avaliação fotográfica	Cor da restauração			Pigmentação marginal			Forma anatômica		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Biomodificador									
Com quitosana nano 2,5%	n= 21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0
6 meses	n= 21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0
Sem quitosana nano 2,5%	n= 21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0
6 meses	n= 21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0	21 (100%)	0	0

DISCUSSÃO

Estudos demonstraram que o uso da solução de quitosana nos tecidos dentinários promove aumento na resistência da superfície da dentina frente à degradação por colagenases (Sherestha et al., 2012), aumentando a resistência mecânica dentinária à degradação hidrolítica (Fawzy et al., 2013) e contribuindo para a formação de uma camada de fosfato de cálcio sobre a dentina desmineralizada (Xu et al., 2011). Ademais, a quitosana apresenta grande potencial antierosivo em esmalte e dentina quando associada a íons e fluoretos metálicos (Ganss et al. 2012).

Além do potencial antierosivo, estudos *in vitro* demonstraram a capacidade de remineralização da quitosana fosforilada, tanto em esmalte (Zhang et al., 2014) quanto em dentina (Xu et al., 2011). No esmalte, as nanopartículas de quitosana com fosfato de cálcio afetaram positivamente o processo de remineralização de forma semelhante ao que ocorre no esmalte em cavidade bucal, mas diferente do processo de remineralização que ocorre pela ação do flúor (Zhang et al., 2014). Na dentina, a quitosana fosforilada biomodificou a dentina desmineralizada, favorecendo a deposição de íons cálcio e fosfato (Xu et al., 2011).

No presente estudo, verificou-se nas avaliações clínicas e fotográficas nos períodos baseline (7 dias) e 6 meses após a realização das restaurações que não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) em nenhum dos critérios clínicos (retenção, descoloração marginal, cárie secundária, adaptação marginal e sensibilidade pós-operatória) e fotográficos (cor da restauração, pigmentação marginal e forma anatômica) avaliados.

Este resultado obtido pode ser justificado considerando-se que as lesões de erosão avaliadas envolviam somente um terço de dentina e apenas uma face dental (palatina ou lingual), em pacientes que não apresentavam diagnóstico de hábitos parafuncionais, como bruxismo/apertamento ou sintomatologia decorrente de distúrbios da ATM, visto que falhas em restaurações adesivas podem estar associadas a fatores parafuncionais não controlados, que afetam a oclusão (Lavigne et al., 2008; Michael et al., 2009; Hickel et al., 2001), como o bruxismo e disfunções orais (Fradeani et al., 2012). Além disto, em casos de reabilitação oral em lesões erosivas severas, a Dimensão Vertical de Oclusão é um fator que pode limitar o tratamento restaurador (Fradeani et al., 2012).

Outro fator que pode justificar o comportamento clínico adequado das restaurações das lesões de erosão é o tempo decorrido após a realização das restaurações. Tratamentos restauradores de lesões cervicais não cariosas, incluindo a

erosão, apresentam falhas clínicas após 2 anos, com deterioração significativa na adaptação marginal e na descoloração da margem cavosuperficial (Abdalla et al., 2006). Assim, estudos longitudinais são necessários para melhor avaliação do desempenho clínico destas lesões.

No presente estudo, a biomodificação da dentina erodida com solução de quitosana nanoparticulada comportou-se de forma semelhante à dentina sem biomodificação, não afetando o desempenho das restaurações com base nos critérios USPHS utilizados e no período de seis meses após a realização das restaurações.

Tal fato pode ser justificado com base em estudos na literatura. Sabe-se que soluções de quitosana fosforilada apresentam limitações na redução da perda de superfície dentinária após desafio erosivo quando comparadas às soluções de flúor e íons metálicos (Beltrame A. et al., 2018). Ainda, a biomodificação com quitosana não influencia a microdureza e a porcentagem atômica de Ca, P e Ca / P da dentina afetada por cárie residual (Curylofo-Zotti F. et al., 2017).

Entretanto, outros estudos *in vitro* demonstraram que soluções de quitosana aplicadas em dentina bovina erodida parecem reduzir a degradação de fibrilas de colágeno (Beltrame A. et al., 2018), enquanto que o uso de dentifrícios a base de quitosana reduz significativamente a erosão dentinária em 24-67% (condições extrínsecas - ácido cítrico, pH: 2,5) e 21-40% (condições intrínsecas - solução de HCl/pepsina, pH: 1,6) em dentina bovina erodida artificialmente (Aykut-Yetkiner, A. et al, 2014). Portanto, o efeito da quitosana sobre dentina erodida ainda deve ser estudado para comprovar sua eficácia quanto à prevenção e tratamento da erosão dentária (Beltrame A. et al., 2018).

Além do biomodificador, a utilização, neste estudo, do sistema adesivo Single Bond Universal, pode ter colaborado para os resultados obtidos nas restaurações das lesões erosivas, visto que possui capacidade de adesão química ao dente (Perdigão J. et al., 2012) atribuída à presença do ácido polialquenoico. Acredita-se que a presença deste copolímero forme complexos na região superficial da camada híbrida e dentro dos túbulos dentinários (Yoshida Y. et al, 2000), estabilizando a interface de união e relaxando as tensões superficiais (Van Meerbeek B. et al, 2003), além de melhorar a estabilidade em meio úmido (Spencer P. et al, 2000).

Outro componente muito importante na composição do adesivo é o 10-metacrilóiloxidecil di-hidrogênio fosfato, ou 10-MDP. Após autocondicionamento, os íons cálcio da camada híbrida, ao entrarem em contato com o 10-MDP, iniciam uma interação química por nano-camadas até formar um sal (MDP-Ca) (Mena-Serrano et al., 2013). Este mecanismo contribui para a adesão química dos adesivos

autocondicionantes, favorecendo os resultados clínicos (Peumans, M. et al, 2010; Frankenberger R. et al., 2008; Erickson R. L. et al., 2009; Van Landuyt K. L. et al., 2006; Taschner M. et al., 2010; Hickel R. et al., 2007; Perdigão J. et al., 2005) e laboratoriais (Inoue S. et al., 2005) das restaurações.

Além da composição, a aplicação vigorosa de adesivos autocondicionantes melhora a resistência de união imediata e minimiza a degradação da união a longo prazo (Amaral, R.C. et al, 2010; Loguercio A.D. et al, 2011), tanto em dentina úmida quanto em dentina seca (Perdigão J. et al, 2012). O uso do condicionamento seletivo do esmalte antes da aplicação do material autocondicionante eleva a resistência de união do esmalte(Perdigão J. et al, 2012).

Mena-Serrano et al., 2013 avaliaram, *in vivo*, 200 restaurações em lesões cervicais não cariosas, incluindo lesões de erosão, onde foi utilizado o adesivo Single Bond Universal. Após seis meses de avaliação clínica, apenas 4 restaurações falharam (1 do grupo convencional e 3 do grupo autocondicionante).

Portanto, o uso do adesivo Single Bond Universal no presente estudo, associado à técnica de condicionamento ácido seletivo em esmalte, pode ter influenciado no desempenho satisfatório das restaurações em ambos os grupos avaliados.

Ademais, estudos recentes na literatura mostram benefícios do uso da quitosana. Por exemplo, um suporte de quitosana-aluminato de cálcio (CH-AlCa) combinado à uma dosagem bioativa de 1α , 25-di-hidroxitamina D3, que aumenta a quimiotaxia e o potencial regenerativo das células odontogênicas da polpa e a expressão de um fenótipo odontoblástico nestas células, fornece um microambiente altamente bioativo para células pulpares dentárias propensas à regeneração dentinária, podendo ser um potencial sistema de engenharia tecidual livre de células para capeamento pulpar direto (Bordini et al., 2019). Machado et al., 2019, formularam uma resina adesiva experimental com quitosana e quitosana carregada com triclosan. A quitosana carregada com triclosan em uma resina adesiva experimental demonstrou maior atividade antibacteriana imediatamente e após seis meses, além de induzir a estabilidade da interface dentina/adesivo, afetando positivamente o selamento marginal a longo prazo. Hashmi et al., 2019 avaliaram o efeito do condicionamento dentinário com nanocomplexos precursores de quitosana-hidroxiapatita (C-HA) sobre a profundidade da penetração do selador de silicato tricálcico nos túbulos dentinários e a resistência à tração, demonstrando que o condicionamento nanocomplexo C-HA aumenta a molhabilidade da superfície da dentina para facilitar a penetração do selante de silicato tricálcico e a resistência à tração da dentina.

No presente estudo, a aplicação do biomodificador de quitosana nanoparticulada não influenciou a qualidade e a longevidade das restaurações no período de 6 meses dentro dos critérios USPHS avaliados. Devido aos fortes indicativos supracitados dos benefícios da aplicação de biomodificadores, como soluções a base de quitosana, sobre a dentina erodida, mais estudos devem ser realizados, avaliando-se, em períodos mais longos e em amostras maiores, o impacto *in vivo* e a longo prazo do biomodificador de quitosana nanoparticulada sobre a dentina erodida e, por conseguinte, sobre o tratamento restaurador da erosão dental.

CONCLUSÃO

A biomodificação da dentina erodida com quitosana nanoparticulada não influenciou clínica e fotograficamente as restaurações realizadas após 6 meses.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. I., GARCÍA-GODOY, F. Clinical evaluation of self-etch adhesives in Class V non-carious lesions. **Amer J Dent**, v. 19, n. 5, 2006.
- AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W. M. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. **J Rehabil Oral**, v. 26, n. 8, p. 624-630, 1999.
- AMARAL, R. C.; SOLARI, H. P. Collagen crosslinking for the treatment of keratoconous. **Rev Bras Oftalmol**, vol. 68, nº 6, p. 86–91, 2009.
- AMARAL R. C., STANISLAWCZUK R., ZANDER-GRANDE C., GAGLER D., REIS A., LOGUERCIO A. D. Bond strength and quality of the hybrid layer of one-step self-etch adhesives applied with agitation on dentin. **Oper Dent**, v. 35, n. 2, p. 211-9, 2010.
- AYKUT-YETKINER A. et al., Prevention of dentine erosion by brushing with anti-erosive toothpastes. **J Dent**, v. 42, p. 856 – 861, 2014.
- BELTRAME, A. P. C. A. et al. Effect of Phosphorylated Chitosan on Dentin Erosion: An in vitro Study. **Caries Res**, v. 52, p. 378-386, 2018.
- BORDINI E. A. F., CASSIANO F. B., SILVA I. S. P., USBERTI F. R., ANOVAZZI G., PACHECO L. E., PANSANI T. N., LEITE M. L., HEBLING J., DE SOUZA COSTA C. A., SOARES D. G. Synergistic potential of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 and calcium-aluminate-chitosan scaffolds with dental pulp cells. **Clin Oral Investig**, 2019.
- CROLL, T. P. Restorative dentistry for preschool children. **Dent Clin North Am**, v. 39, n. 4, p. 737-70, 1995.
- CURYLOFO-ZOTTI, F. A., et al. Selective removal of carious lesion with Er:YAG laser followed by dentin biomodification with chitosan. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 7, p. 1595-1603, 2017.
- CVAR J, RYGE G. Criteria for the clinical evaluation of dental restorative materials. **USPHS Publ**, p. 790-240, 1971.
- ELSAKA, S. E.; ELNAGHY, A. M.; Antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chitosan solutions and the outcomes on the bond strength of Real Sealer sealer to radicular dentin. **J Biomed Res**, v. 26, n. 3, p. 193–199, 2012.
- ERICKSON R. L., BARKMEIER W. W., LATTA M. A. The role of etching in bonding to enamel: a comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems. **Dent Mater**, v. 25, n. 11, p. 1459-1467, 2009.
- FAWZY, A. S.; NITISUSANTA, L. I; IQBAL, K.; DAOOD, U.; BENG, L. T.; NEO, J. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. **J Mech Behav Biomed Mater**, v. 17, p. 278-89, 2013.
- FRADEANI, M. et al., Esthetic Rehabilitation of a Severely Worn Dentition with Minimally Invasive Prosthetic Procedures (MIPP). **Quintessence**, v. 32, n. 2, 2012.

FRANKENBERGER R., LOHBAUER U., ROGGENDORF M. J., NAUMANN M., TASCHNER M. Selective enamel etching reconsidered: better than etch-and-rinse and self-etch? **J Adhes Dent**, v. 10, n. 5, p. 339-44, 2008.

GANSS, C.; LUSSI, A.; SCHLUETER, N. Insights in etiological factors and photomechanisms, and current strategies for prevention and therapy. **Am J dent**, v. 25, n. 6, p. 351-364, 2012.

HASHMI A., ZHANG X., KISHEN A. Impact of Dentin Substrate Modification with Chitosan-Hydroxyapatite Precursor Nanocomplexes on Sealer Penetration and Tensile Strength. **J Endod**, 2019.

HICKEL R., MANHART J. Longevity of restorations in posterior teeth and reasons for failure. **J Adhes Dent**, v. 3, p. 45-64, 2001.

HICKEL R., ROULET J. F., BAYNE S., et al. Recommendations for conducting controlled studies of dental restoratives materials. Science committee project 2/98 – FDI world dental federation study design (Part I) and criteria for evaluation (Part II) of direct and indirect restoration including onlays and partial crowns. **J Adhes Dent**, v. 9, n. 1, p. 121-47, 2007.

IMFELD, T. Dental erosion. Definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, v. 104, n. 2, p. 151-155, 1996.

INOUE, S., KOSHIRO, K., YOSHIDA, Y., DE MUNCK, J., NAGAKANE, K., SUZUKI, K., SANO, H., VAN MEERBEEK, B. Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. **J Dent Res**, v. 84, n. 12, p. 1160-4, 2005.

KLETER, G. A.; DAMEN, J. J.; EVERTS, V.; NIEHOF, J.; TEN CATE, J. M. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. **J Dent Res**, v. 75, n. 9, p. 1523-1529, 1994.

KUMAR, R. M. N. V. A review of chitin and chitosan applications. **React and F Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.

LAVIGNE GJ, KHOURY S, ABE S, YAMAGUCHI T, RAPHAEL K. Bruxism physiology and pathology: an overview for clinicians. **J Oral Rehabil**, v. 35, p. 476-494, 2008.

LOGUERCIO, A. D., STANISLAWCZUK, R., MENA-SERRANO, A., REIS, A. Effect of 3-year water storage on the performance of one-step self-etch adhesives applied actively on dentine. **J Dent**, v. 39, n. 8, p. 578-87, 2011.

LOGUERCIO AD, RAFFO J, BASSANI F, BALESTRINI H, SANTO D, DO AMARAL RC, REIS A. 24 month clinical evaluation in non-carious cervical lesions of a two-step etch-and-rinse adhesive applied using a rubbing motion. **Clin Oral Investig**, v. 15, n. 4, p. 589-96, 2011.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; JAEGGI-SCHÄRER, S. Prediction of the erosive potential of some beverages. **Caries Res**, v.29, n. 5, p.349-354, 1995.

MACHADO A. H. S., GARCIA I. M., MOTTA A. S. D., LEITUNE V. C. B., COLLARES F. M. Triclosan-loaded chitosan as antibacterial agent for adhesive resin. **J Dent**, v.83, p. 33-39, 2019.

MACHADO, N. A. G., FONSECA R. B., BRANCO C. A., BARBOSA G. A. S., FERNANDES NETO A. J., SOARES C. J. Dental wear caused by association between bruxism and gastroesophageal reflux disease: a rehabilitation report. **J Appl Oral Sci**, p. 327-33, 2007.

MENA-SERRANO A., KOSE C., DE PAULA E. A., TAY L. Y., REIS A., LOGUERCIO A. D., PERDIGÃO J. A new universal simplified adhesive: 6 month clinical evaluation. **J Esthet Restor Dent**, v. 25, n. 1, p. 55-69, 2013.

MICHAEL J. A., TOWNSEND G. C., GREENWOOD L. F., KAIDONIS J. A. Abfraction: separating fact from fiction. **Aust Dent J**, v. 54, p. 2-8, 2009.

PERDIGÃO J., CARMO A. R., ANAUATE-NETTO C., AMORE R., LEWGOY H. R., CORDEIRO H. J., DUTRA CORRÊA M., CASTILHOS N. Clinical performance of a self-etching adhesive at 18 months. **Am J Dent**, v. 18, n. 2, p. 135-40, 2005.

PERDIGÃO J., CARMO A. R., GERALDELI S. Eighteen-month clinical evaluation of two dentin adhesives applied on dry vs moist dentin. **J Adhes Dent**, v. 7, n. 3, p. 253-8, 2005.

PERDIGÃO J., DUTRA-CORRÊA M., SARACENI C. H., CIARAMICOLI M. T., KIYAN V. H., QUEIROZ C. S. Randomized clinical trial of four adhesion strategies: 18-month results. **Oper Dent**, v. 37, n. 1, p. 3-11, 2012.

PERDIGÃO J., SEZINANDO A., MONTEIRO P. C. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. **Am J Dent**, v. 25, n. 3, p. 153-8, 2012.

PERDIGÃO J., MUÑOZ M. A., SEZINANDO A., LUQUE-MARTINEZ I. V., STAICHAK R., REIS A., et al. Immediate adhesive properties to dentin and enamel of a universal adhesive associated with a hydrophobic resin coat. **Oper Dent**, v. 39, n. 5, p. 489-99, 2014.

PEUMANS, M., DE MUNCK, J., VAN LANDUYT, K. L., POITEVIN A, LAMBRECHTS, P., VAN MEERBEEK, B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. **Dent Mater**, v. 26, n. 12, p. 1176-84, 2010.

PIMENTA, J. A.; ZAPAROLLI, D.; PÉCOR, J. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Chitosan: effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. **Bra Dent J**, v. 23, n. 3, 2012.

RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromol**, v. 4, n. 6, 2003.

SCHEFFEL, D. L. S.; COSTA, C. A. S; HEBLING, J.; SOARES, D. G. S; BASSO, F. G.; RIBEIRO, A. P. D.; Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. **Dent Mater**, v. 30, n. 7, 2014.

SHERESTHA, A.; FRIEDMAN, S.; KISHEN, A. Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. **J dent Res**, v. 90, n. 11, p. 1346-1351, 2011.

SILVA, P. V.; GUEDES, D. F.; PECORA, J. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Time-dependent effects of chitosan on dentin structures. **Braz Dent J**, v. 23, n. 4, 2012.

SOARES, D. G.; ROSSETO, H. L.; BASSO, F. G.; SCHEFFEL, D. S.; HEBLING, J.; COSTA, C. A. S. Chitosan-collagen biomembrane embedded with calcium-aluminate enhances dentinogenic potential of pulp cells. **Braz. oral res**, São Paulo, v. 30, n. 1, 2016.

SPENCER P., WANG Y., WALKER M. P., WIELICZKA D. M., SWAFFORD J. R. Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. **J Dent Res**, v. 79, n. 7, p. 1458-63, 2000.

SPIN-NETO, R.; COLETTI, F. L.; FREITAS, R. F.; PAVONE, C.; CAMPANA-FILHO, S. P.; MARCANTONIO, R. A. C. Chitosan-based biomaterials used in critical-size bone defects: radiographic study in rat's calvaria. **Rev. odontol. UNESP**, Araraquara, vol. 41, n. 5, 2012.

TASCHNER M., NATO F., MAZZONI A., FRANKENBERGER R., KRÄMER N., DI LENARDA R., PETSCHERT A., BRESCHI L. Role of preliminary etching for one-step self-etch adhesives. **Eur J Oral Sci**, v. 118, n. 5, p. 517-24, 2010.

TAVARIA, F. K.; COSTA, E. M.; PINA-VAZ, I.; CARVALHO, M. F.; PINTADO, M. M. Chitosan as a dental biomaterial: state of the art. **Rev. Bras. Eng. Bioméd**, v. 29, n. 1, 2013.

TAY F. R., PASHLEY D. H. Resin bonding to cervical sclerotic dentin: a review. **J Dent.**, v. 66, n. 32, p. 173–96, 2004.

UENO H., MURAKAMI M., OKUMURA M., KADOSAWA T., UEDE T., FUJINAGA T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. **Biomaterials**, v. 22, p. 1667-73, 2001.

URURAHY, M.S.L. Molhabilidade da dentina erodida com quitosana e análise morfológica da superfície. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

VAN LANDUYT, K. L., PEUMANS M., DE MUNCK, J., LAMBRECHTS, P., VAN MEERBEEK, B. Extension of a one-step self-etch adhesive into a multi-step adhesive. **Dent Mater**, v. 22, n. 6, p. 533–544, 2006.

VAN MEERBEEK B., DE MUNCK J., YOSHIDA Y., INOUE S., VARGAS M., VIJAY P., et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Oper Dent**. v. 28, n. 3, p. 215-35, 2003.

VINEETA, N.; SHIKHA, J.; PARUL, B.; ROHIT, A.; SHALVA, R.; PULKIT, M. Effect of phytic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, and chitosan solutions on microhardness of the human radicular dentin. **J Conserv Dent**, v. 19, n. 2, 2016.

WANG L., CASAS-APAYCO L. C., HIPÓLITO A. C., DREIBI V. M., GIACOMMI M. C., BIM JÚNIOR O., RIOS D., MAGALHÃES A. C. Effect of simulates intraoral erosion and/or abrasion effects on etch-and-rinse bonding to enamel. **Am J Dent.**, v. 27, n. 1, p. 29-34, 2014.

XU, T.; XIN, H.; LI, M.; HUANG, H.; ZHOU, S.; LIU, J. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of N,O-quaternary ammonium chitosan. **Carbohydr Res**, v. 346, n. 15, p. 2445-2450, 2011.

XU, Z.; NEOH, K. G.; LIN, C. C.; KISHEN, A. Biomimetic deposition of calcium phosphate minerals on the surface of partially demineralized dentine modified with phosphorylated chitosan. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 98, n. 1, p. 150-159, 2011.

YOSHIDA Y., VAN MEERBEEK B., NAKAYAMA Y., SNAUWAERT J., HELLEMANS L., LAMBRECHTS P., VANHERLE G., WAKASA K. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. **J Dent Res**, v. 79, n. 2, p. 709–14, 2000.

ZHANG, X. et al. Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nano-complexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate. **J Mater Sci: Mater in Med**, v. 25, n. 12, p.2619–2628, 2014.

ZIMMERLI B., DE MUNCK J., LUSSI A., LAMBRECHTS P., VAN MEERBEEK B. Longterm bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. **Clin Oral Invest**. v. 16, p. 1451-61, 2012.

ANEXO 1 - Avaliação fotográfica nos períodos baseline (7 dias) e final (6 meses) após a realização das restaurações

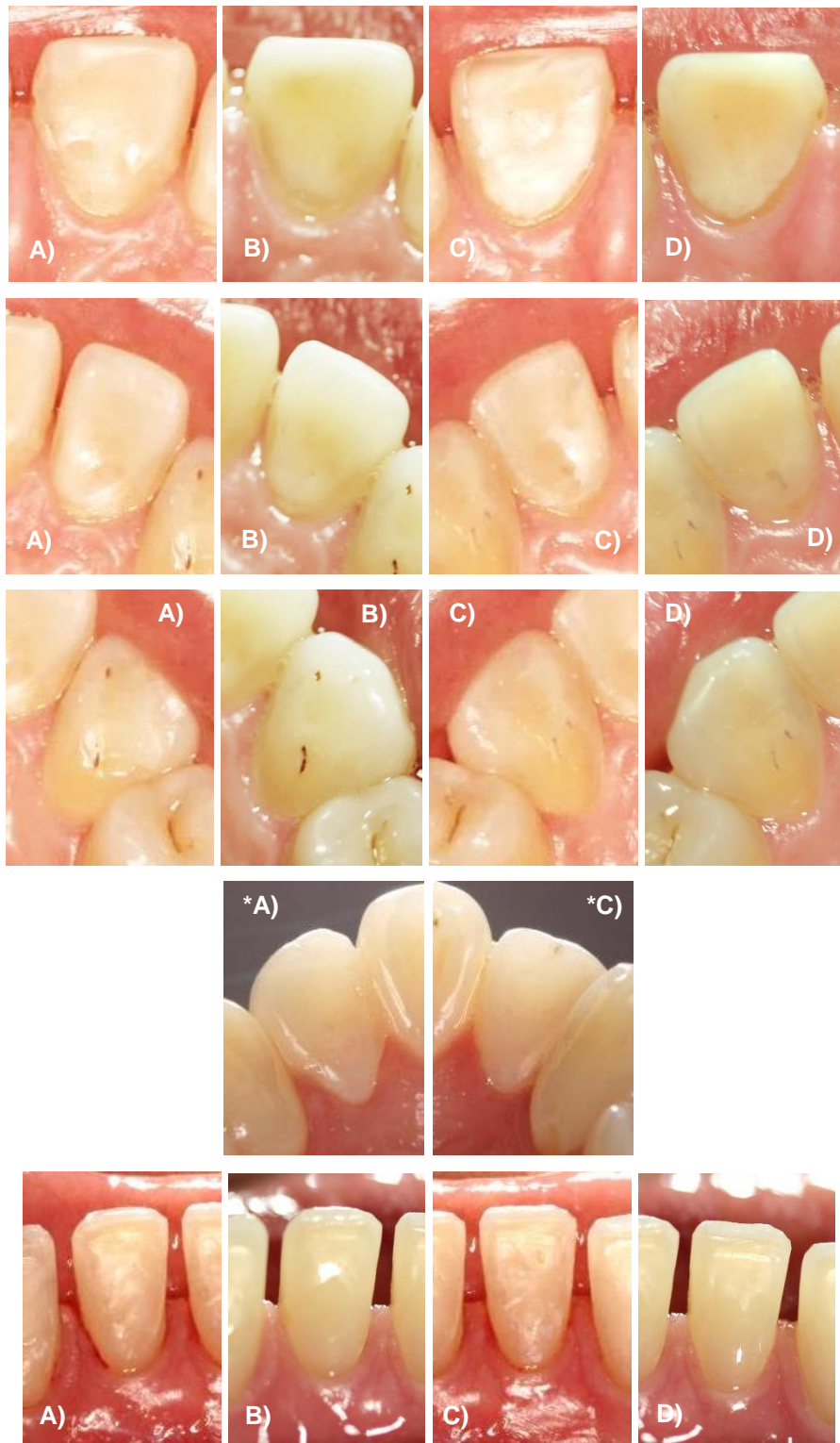


Figura 1. A) sem biomodificação após 7 dias; B) sem biomodificação após 6 meses; C) com biomodificação após 7 dias e D) com biomodificação após 6 meses.

*Paciente não compareceu após 6 meses.



Figura 2. A) sem biomodificação após 7 dias; B) sem biomodificação após 6 meses; C) com biomodificação após 7 dias e D) com biomodificação após 6 meses.

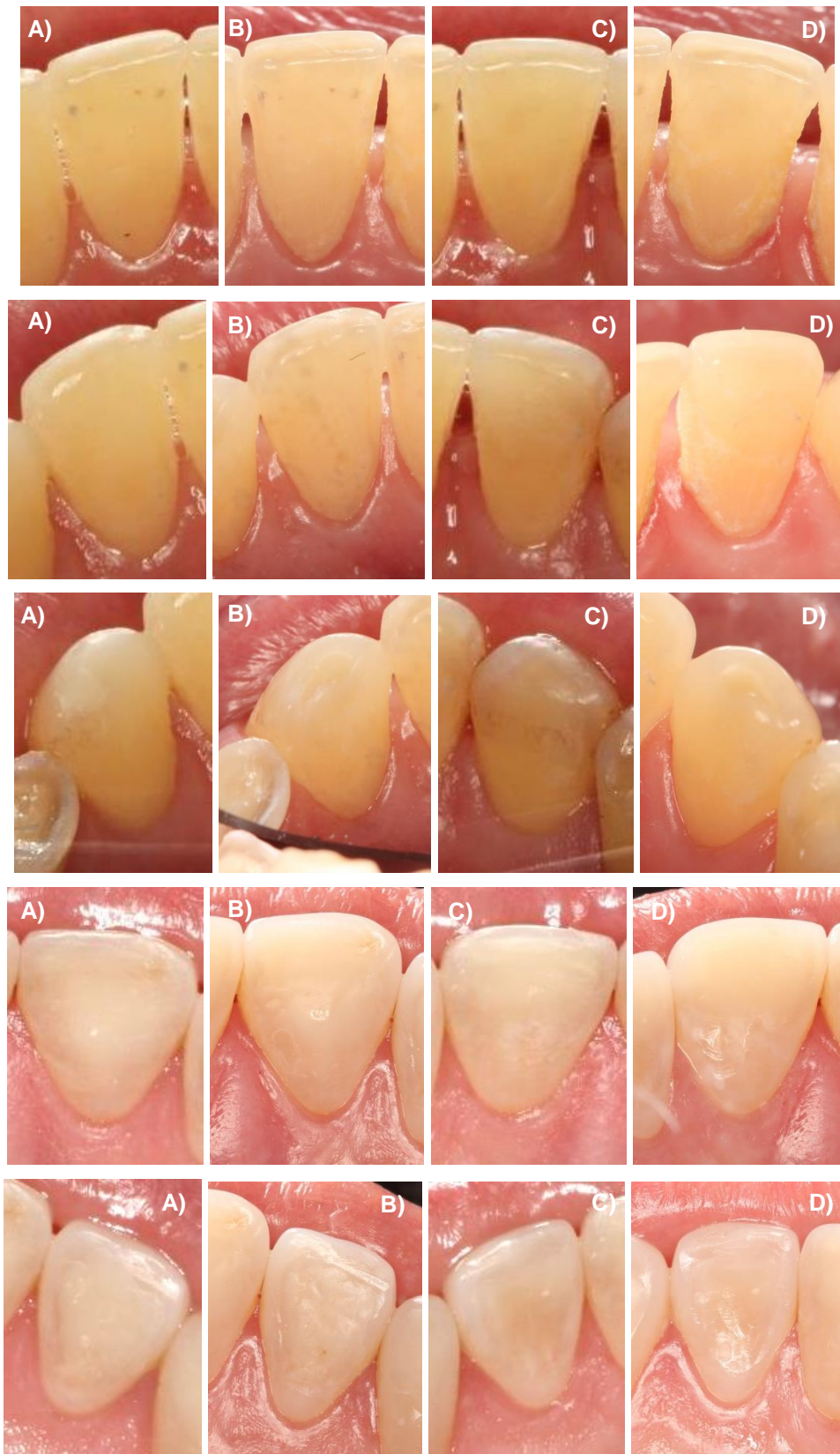


Figura 3. A) sem biomodificação após 7 dias; B) sem biomodificação após 6 meses; C) com biomodificação após 7 dias e D) com biomodificação após 6 meses.

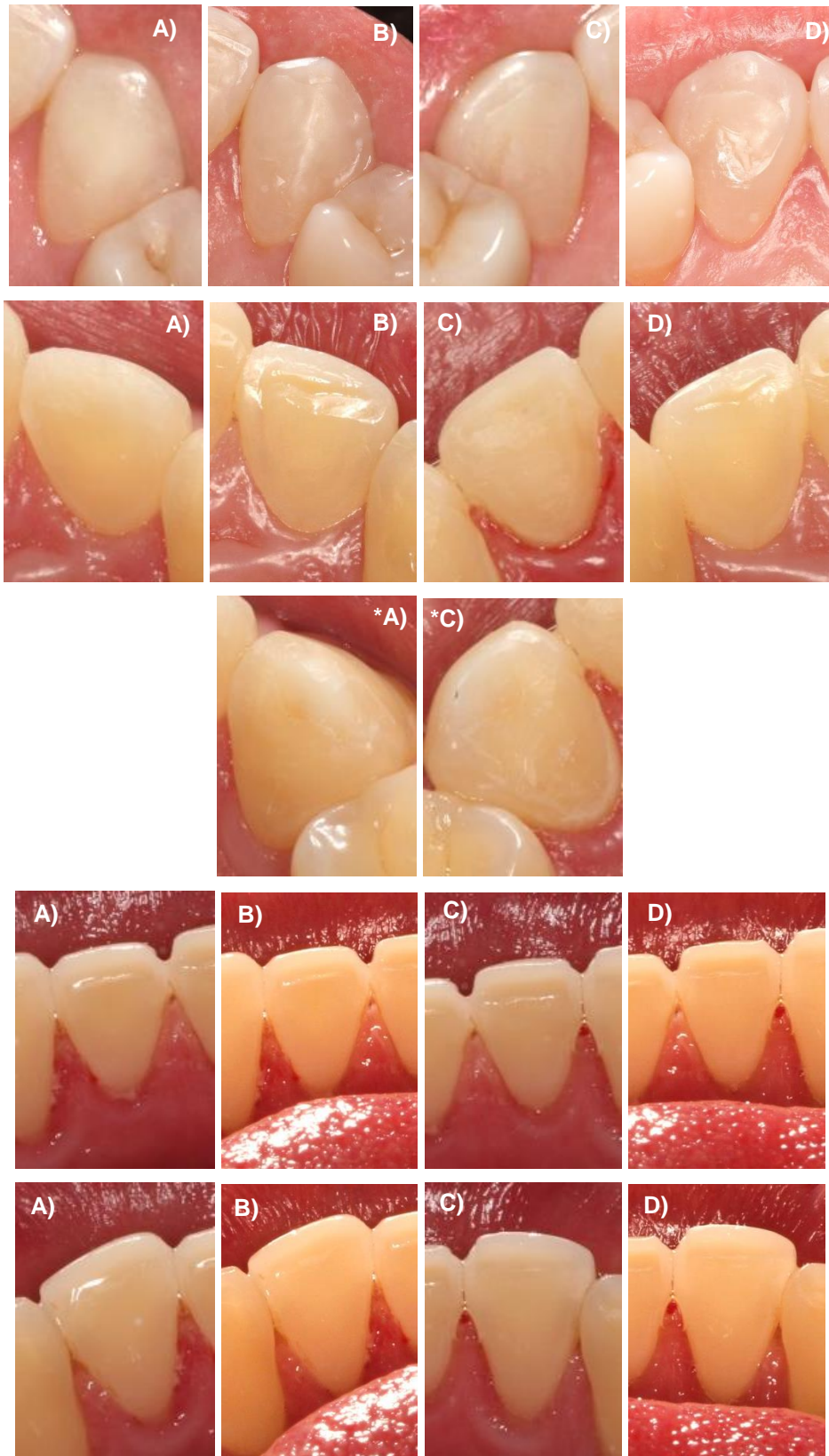


Figura 4. A) sem biomodificação após 7 dias; B) sem biomodificação após 6 meses; C) com biomodificação após 7 dias e D) com biomodificação após 6 meses.
 *Paciente não compareceu após 6 meses.

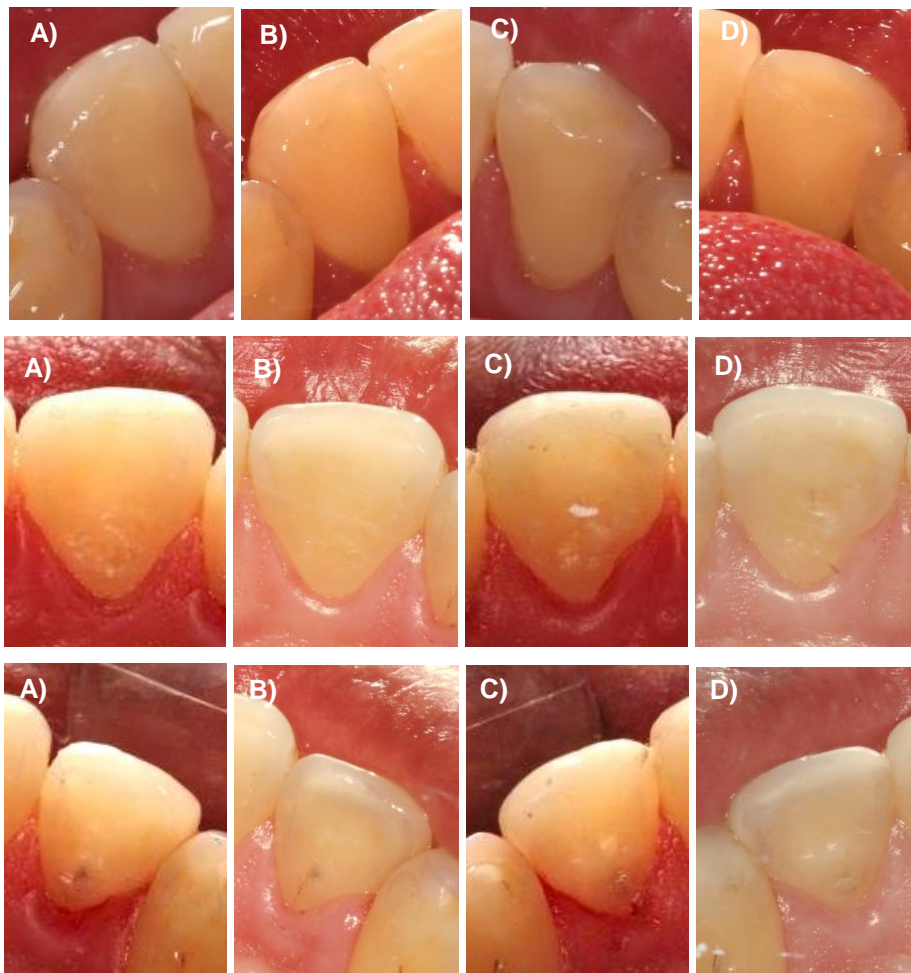


Figura 5. A) sem biomodificação após 7 dias; B) sem biomodificação após 6 meses; C) com biomodificação após 7 dias e D) com biomodificação após 6 meses.